DJW.

MIKROCHIMICA ACTA

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR
A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · F. A. PANETH - Mainz
R. STREBINGER - Wien · C. L. WILSON - Belfast
M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS
E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBER - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF
M. K. ZACHERL - Wien

1958
VIERTES HEFT
MIT 49 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 19. MAI 1958

II

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1958

Mikrochim. Acta

Die Zeitschrift

„Mikrochimica Acta"

erscheint ab 1957 zu einem festen Jahresbezugspreis. Im Jahre 1958 wird ein Band von etwa 800 Seiten Umfang zum Jahresbezugspreis von S 660.—, DM 110.—, sfr. 113.—, $ 26.—, £9/7/- erscheinen. Der Band setzt sich aus 6 Heften zusammen, die in Abständen von etwa 2 Monaten herausgegeben werden.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Eingangs der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editor of „Mikrochimica Acta", Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Dr. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Geschäftliche Mitteilungen sind zu richten an:

Springer-Verlag, Wien, I., Mölkerbastei 5
Fernsprecher: 63 76 71 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien

Grundsätzlich werden nur Arbeiten angenommen, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind; der Autor verpflichtet sich, diese auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen. Mit der Annahme und Veröffentlichung des Manuskriptes geht das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder auf den Verlag über. Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme u. ä. von Heften der Zeitschrift, einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

1958 **Inhaltsverzeichnis** 4. Heft

Seite

Kôno, T. An Automatic Method for Elementary Micro Analyses 461

Erdey, L., L. Mázor und **M. Pápay.** Mikrobestimmung des Fluors durch direkte argentometrische Titration des Chloridgehaltes des PbClF-Niederschlages 482

Spitzy, H., M. Reese und **H. Skrube.** Eine neue, einfache Jodbestimmung im Blutserum unter Anwendung der Isothermdiffusion 488

Németh, Š., und **M. Menkyna.** Zur quantitativen Bestimmung von Jod in Milch 510

Berlingozzi, S., G. Rapi und **A. Mazza.** Radialverfahren zur Ausführung der Elektrophorese und der Elektrorheophorese auf Papier 513

Török, T., und **S. Cséti.** Einwirkung des Magnesiums als dritter Legierungsbestandteil auf die Bestimmung von Zink in Aluminium..... 538

Pilz, W. Die Bestimmung kleiner Mengen aus aromatischen Isocyanaten entstandener Amine neben Isocyanaten in Luft und verdünnten Lösungen 545

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

Department of Agricultural Chemistry, University of Tokyo, Tokyo, Japan

An Automatic Method for Elementary Micro Analyses

By

Tetsuro Kôno

With 12 Figures

(Received September 20, 1957)

I. Introduction

The manual operation of the combustion of samples in elementary micro analysis, proposed by *Pregl*[1], has been rendered automatic by many authors. *Royer* et al.[2] and *Hozumi* et al.[3] moved the movable furnace at a constant speed. *Clark* et al.[4], *Sakamoto*[5], and *Hirai*[6] moved it slowly when samples were apt to vaporize, but quickly on other occasions. On the other hand, *Mitsui*[7,8] designed an automatic apparatus with a static sample furnace, and reported that samples could be burned satisfactorily, provided that the temperature of the furnace was raised slowly, especially between 200–300°.

Fischer[9], in the determination of carbon and hydrogen, tried to drop the input voltage of a static sample furnace when the pressure in the combustion tube increased. Similarly, *White* et al.[10], in the determination of halogen and sulphur, designed an apparatus in which the temperature of a static sample furnace was lowered when the temperature in the combustion tube rose higher than usual because of the combustion.

The author of this paper has been interested in this type of automatic control of the combustion, and, after several investigations, has devised an apparatus which has been used satisfactorily in the laboratory for several years for the determination of carbon and hydrogen, nitrogen, sulphur and oxygen. Experimental results have been reported successively in the course of the development, but now, at the conclusion of the series of the investigations, it seems desirable to examine the results as a whole so as to unify the procedures and the apparatus.

II. Basic Design and Principle of the Apparatus

A. Basic design of the apparatus

The basic design of the apparatus is illustrated in Fig. 1.

Constant-pressure gas-tank. As it is necessary to keep the water-level

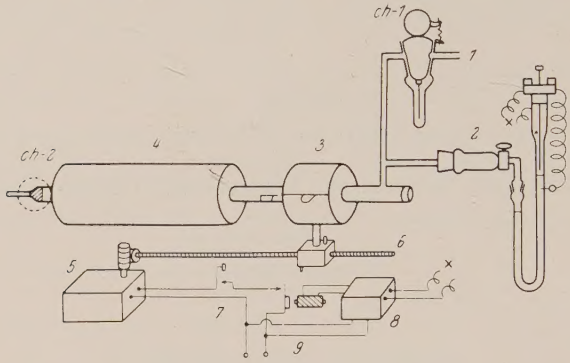


Fig. 1. Diagrammatic representation of the apparatus. *1* Gas inlet, at constant pressure. *2* Manometer with a switch. *3* Movable furnace, 8-cm. *4* Stationary furnace, 20-cm. *5* Synchronized motor. *6* Screwed shaft. *7* Stopper. *8* Vacuum-tube relay. *9* 100 volts, AC. *ch-1* and *-2* chokes, injection-needle or asbestos plug

in the manometer (Fig. 1, *2*) constant, a metal gas-tank designed after *Mitsui*[11] (Fig. 2) is used in every determination except that of nitrogen, in which a conventional regulator is used (Fig. 6, *4*).

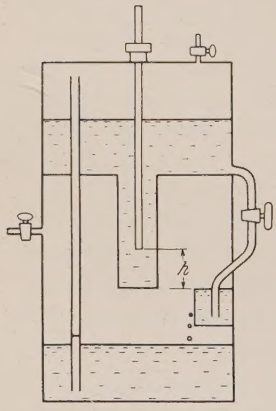


Fig. 2
Constant-pressure gas-tank

Chokes. Two chokes (*ch-1* and *-2*) are placed before and after the combustion tube. A special stop-cock (Fig. 3), designed after *Mitsui*'s gas-flow-meter[12], with an injection-needle is fitted. Dimensions of the injection-needles are given in Table I. The flow resistance of a $^1/_5$ mm injection-needle is such that 6–7 ml of air will flow per minute when its pressure is maintained at 10 cm H_2O. An asbestos plug with such a flow resistance is used as *ch-2* in the determination of carbon and hydrogen[13]. These chokes serve to convert volume change into pressure change so as to control the manometer.

Manometer. The manometer (Fig. 1, *2*) contains saturated solution of sodium sulphate, and has two platinum electrodes, of which the lower one is fixed, but the upper one can be screwed up and down. The height of the manometer is 20 cm and its inner diameter is 4 mm. A small anhydrone tube serves to protect the combustion tube from moisture.

The stop-cock must be closed when the manometer is not in use. The electrodes are connected to a vacuum-tube-relay, and its circuit is connected so as to cut off the electric supply to the synchronized motor which drives the movable furnace, when the manometer circuit is closed, *i. e.* when the pressure in the reaction tube increases.

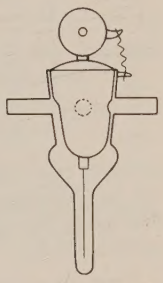


Fig. 3. Stop-cock with an injection-needle

Furnaces. The movable furnace (Fig. 1, *3*), 8 cm long, is driven by the synchronized motor at a rate of 13 mm/min. The same speed is used in every determination. The stationary furnace (Fig. 1, *4*) is 20 cm long. Both furnaces, as well as other accessory furnaces, are equipped with a thermocouple.

B. The principle of automatic combustion

In this proposed apparatus, the movable furnace travels at a constant speed, 13 mm/min, but stops when the manometer circuit is closed by the pressure increase in the combustion tube. Therefore, the furnace does not move until it becomes red-hot; it then moves, but stops again whenever the sample begins to boil, decompose or burn. This means that the relay responds precisely to that pressure increase in the combustion tube which is caused by the vaporization or

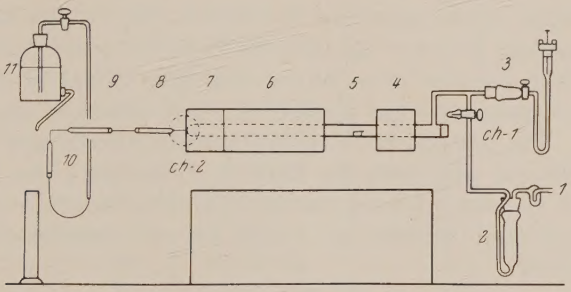


Fig. 4. Apparatus for the determination of carbon and hydrogen. *1* Air inlet. *2* $CaCl_2$-ascarite-anhydrone. *3* Manometer. *4* Movable furnace. *5* Combustion tube and sample boat. *6* Stationary furnace. *7* Furnace for lead dioxide. *8* Anhydrone tube. *9* Ascarite-anhydrone tube. *10* Ascarite tube. *11* Mariotte's bottle. *ch-1* and *-2* chokes

combustion of the sample, this being distinguished from that which is caused by the thermal expansion of the carrier-gas.

Although the apparatus cannot prevent explosion, back-flow of the vapour is partly prevented by the presence of the choke, *ch-1*, through which the carrier-gas is always entering, even when an explosion occurs, because the pressure in the gas-tank is several cm higher than that in the combustion tube. Moreover, the vapour flowing backwards will be burned off in the red-hot movable furnace, which is 8 cm in length.

Table I. General analy-

Determination of	gas				temperature of	
	nature	velocity ml/min	chokes		movable furnace °C	stationary furnace °C
			ch-1	*ch*-2		
C–H	air	5	$^1/_5$-in.*	plug**	750–800	750–800
N	CO_2	5	$^1/_5$-in.	$^1/_5$-in.	850–900	750–800
S (Hal)	O_2	10	$^1/_4$-in.	$^1/_4$-in.	750–800	750–800
O	N_2	10	$^1/_4$-in.	$^1/_4$-in.	900–950	1150 ± 5

* $^1/_5$-in.: injection needle $^1/_5$ mm in diameter and 17 mm long; $^1/_4$-in.: injection needle $^1/_4$ mm in diameter and 20 mm long.

** Plug: asbestos plug (loc. cit.).

The length of the movable furnace has a further significance. The platinum sample boat must be heated at the centre of the furnace for five minutes after it arrives at the stationary furnace so as to pyrolyze charcoal completely.

The main conditions for the automatic pyrolysis are summarized in Table I.

III. Determination of Carbon and Hydrogen[13]

A. Apparatus and principles

The principle of the apparatus is shown in Fig. 4. The basic system and the procedure are not significantly different from those proposed by *Pregl*[1]. The reaction tube, 50 cm long and 12 mm in diameter, is filled with reagents after the method of *Pregl*, although lead chromate is not used. The first choke is the $^1/_5$ injection-needle and the second one is an asbestos plug with the same flow resistance (see II A). Anhydrone and Ascarite are used for the absorption of water and carbon dioxide respectively. Purified air is used for the combustion as well as for the sweeping[3].

B. Procedure

The main conditions for the analysis are given in Table I. The absorption tubes, the sample and the movable furnace are set properly. The stop-cock at the manometer is opened. The tip of the needle electrode is set a few mm above the surface of the sodium sulphate solution. The furnaces are turned on. The moving furnace moves at first, but stops in thirty seconds because the air in the reaction tube expands thermally. After three minutes, the furnace will again begin to move; its temperature may at that time be about 600° C. The furnace then stops again automatically near the sample boat for a minute or so, while the sample vaporizes or decomposes. If the sample carbonizes there, the furnace will proceed to the stationary furnace without stopping. But if the sample is

tical conditions

time for			method of measurement
combustion and sweeping, min	measurement, min	total analysis min	
30***	10, 15	around 50	absorption tubes are weighed
30	(10–5) 15	around 50	azotometer is measured
30	(10–5) 15	around 50	silver roll is weighed
30	15	around 50	silver roll is weighed

*** When about 3 mg of a sample is used the movable furnace reaches the stationary furnace in about ten minutes; the heating is continued for five minutes more, and the sweeping is complete twenty minutes after the movable furnace reaches the stationary furnace, *i. e.* thirty minutes from the beginning.

distilled by heat and condenses ahead of the movable furnace, this will stop once again near the stationary furnace, until the liquidified sample vaporizes completely.

In every case, however, the furnace arrives at the stationary furnace in about ten minutes, provided that the amount of the sample is about 3 mg. Heating by the movable furnace is continued for five minutes more to burn off the charcoal completely.

The sweeping is complete twenty minutes after the movable furnace arrives at the stationary furnace Absorption tubes are disconnected, wiped and weighed in ten and fifteen minutes, respectively. A complete analysis may be accomplished in fifty minutes. Care must be taken not to soil the absorption tubes with sweaty or greasy fingers.

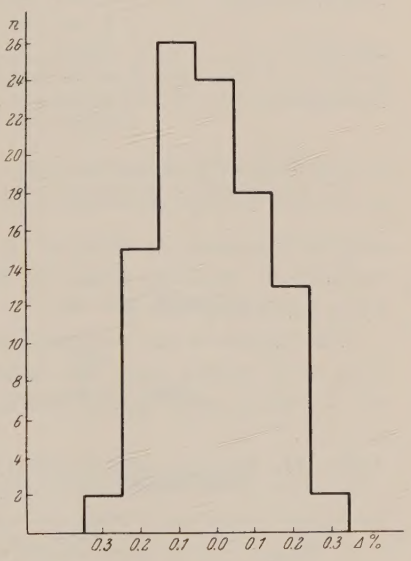


Fig. 5. Comparison of carbon value obtained with automatic and manual method. Δ% indicates: C% (automatic) − C% (manual)

C. Results and discussion

The results of analyses on several test samples are shown in Table II. None of the samples in the Table flowed backward and deposited. One hundred samples were analysed by this method and by the classic manual method, and the results are summarized in Fig. 5. The results obtained with the automatic apparatus are as satisfactory as those obtained by

Table II. Results of the determination of carbon and hydrogen

Sample	mg	found C %	found H %	calcd. C %	calcd. H %	error C %	error H %
Sucrose	2.608	42.19	6.48	42.10	6.48	+ 0.09	± 0.00
	3.510	42.15	6.54	42.10	6.48	+ 0.05	+ 0.06
Vanillin	3.462	63.07	5.08	63.15	5.30	— 0.08	— 0.22
	2.936	63.15	5.11	63.15	5.30	± 0.00	— 0.19
Hippuric acid	3.654	60.30	5.09	60.33	5.06	— 0.03	+ 0.03
	2.745	60.41	5.14	60.33	5.06	+ 0.08	+ 0.08
Aspartic acid	3.581	36.02	5.13	36.09	5.30	— 0.07	— 0.17
	3.021	36.16	5.19	36.09	5.30	+ 0.07	— 0.11
Acetanilide	3.183	70.98	6.79	71.09	6.71	— 0.11	+ 0.08
	2.404	71.18	6.78	71.09	6.71	+ 0.09	+ 0.07
Br-acetanilide	4.210	45.09	3.75	44.88	3.77	+ 0.21	— 0.02
	3.171	44.90	3.71	44.88	3.77	+ 0.02	— 0.06
PTSA.*	2.472	49.08	5.60	49.10	5.30	— 0.02	+ 0.30
	2.590	49.14	5.32	49.10	5.30	+ 0.04	+ 0.02
Sulphathiazole	2.603	42.30	3.28	42.35	3.53	— 0.05	— 0.25
	3.977	42.49	3.56	42.35	3.53	+ 0.14	+ 0.03
Diphenylamine	2.964	85.04	6.72	85.21	6.56	— 0.17	+ 0.16
	3.059	85.17	6.61	85.21	6.56	— 0.04	+ 0.05
2,4-Di.**	3.046	35.77	1.37	35.56	1.48	+ 0.21	— 0.11
	4.747	35.67	1.45	35.56	1.48	+ 0.11	— 0.03
Phenacetin	3.849	67.22	7.10	67.02	7.31	+ 0.20	— 0.21
	4.233	67.18	6.98	67.02	7.31	+ 0.16	— 0.33

* *p*-Toluenesulphonamide.
** 2,4-Dinitrochlorobenzene.

a skilful analyst. As three of the hundred samples flowed back partly, the deposit resulting from the flow-back was driven into the furnace by a gas-burner.

The results of test analyses performed at intervals during the routine work over several years are summarized in Table III. Sucrose, 2–4 mg, was normally used in the test analyses.

Table III. Results of test analyses for C and H carried out during routine work*

Subject	number of results (n)	mean error ($m\,\Delta$)	standard deviation of error ($\hat{\sigma}$)
Carbon	406	0.025%	0.15%
Hydrogen	108	0.026%	0.19%

$$m\,\Delta = \frac{\Sigma\,(\text{found}\% - \text{calcd.}\%)}{n}; \qquad \hat{\sigma} = \sqrt{\frac{\Sigma\,(\text{found}\% - \text{calcd.}\%)^2}{(n-1)}}$$

* The results in Table III were obtained by Mrs. *S. Miyao*, Mrs. *M. Ishii*, Mrs. *K. Satô*, Miss *M. Suzuki* and Miss *I. Isobe*.

IV. Determination of Nitrogen[14]

A. Apparatus and principles

The main arrangement of the apparatus is shown in Figs. 6 and 7, *C*. Reduced copper is filled into a quartz tube 5 cm long (Fig. 6, *9*), and

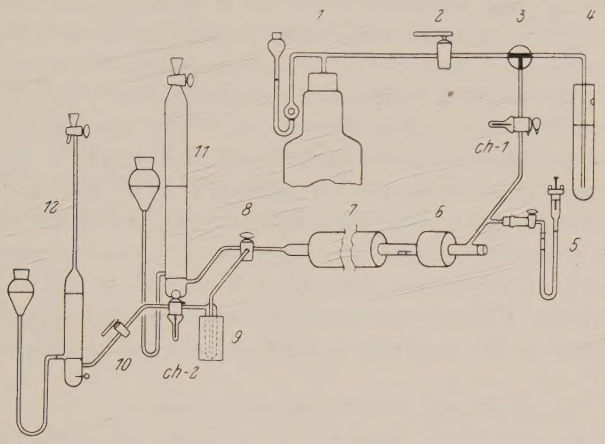


Fig. 6. Apparatus for the determination of nitrogen. *1* Dewar bottle containing dry-ice. *2* Regulation cock. *3* Three-way cock. *4* Pressure-regulator. *5* Manometer. *6* Movable furnace. *7* Stationary furnace. *8* Three-way cock. *9* Furnace for reduced copper. *10* Stop-cock. *11* Gasometer, 200-ml. *12* Azotometer. *ch-1* and *-2* chokes

this is separated from the combustion tube, 50 cm long, which contains only copper oxide. Air drawn into the combustion tube is flushed out into the gasometer (Fig. 6, *11*) through the combustion tube. The advantage of the arrangement over that of *Gysel*'s[15] (Fig. 7, *A*) is that the sample is not exposed to the back-flowing hot gas during the gas-exchange procedure, and the copper oxide is reoxidized at the same time. The principal conditions for the analysis are given in Table I. The temperature of the reduced-copper furnace (Fig. 6, *9*) is 500–550° C[16]. Carbon dioxide is produced from dry-ice, and its flow-rate is controlled at 5 ml/min by the depth of water in the pressure regulator, provided that the flow-resistances of the chokes are fixed and the levelling bulb of the azotometer is placed on the bench. The platinum electrode, sealed at the bottom of the azoto-

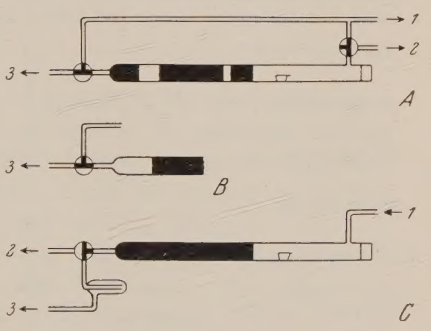


Fig. 7. Gas-circuit for the determination of nitrogen. *A* Gysel's circuit. *B* Mitsui's circuit. *C* Proposed circuit. *1* CO_2-inlet. *2* Gasometer. *3* Azotometer. ■ CuO, □ Cu

meter, is used to oxidize the mercury surface electrolytically[17,18], preventing carbon dioxide bubbles from sticking to it. The upper stop-cock is sealed by mercury.

B. Procedure

About 3 mg of a sample is placed in a platinum boat and covered with about 500 mg of powdered copper oxide. The boat is inserted into the combustion-tube, and 200 ml of carbon dioxide is expelled into the gasometer. The pressure regulator is isolated at that time so as to expel the gas quickly. The gas is then directed into the azotometer. The stopcock at the manometer is opened, and the sample is burned automatically as in the case of the determination of carbon and hydrogen. After the completion of the sweeping, the stop-cocks are closed, first that at the pressure regulator, and then that at the azotometer. Finally, the stop-cock at the pressure-regulator is turned to isolate the latter from the system. The azotometer is read as usual, while the next sample is being placed in the combustion tube and the gas exchanged.

C. Results and discussion

The results obtained on various test samples are shown in Table IV. The results of test analyses over a year are summarized in Table V, where from 2 to 4 mg of aspartic acid is normally used as the test material.

Table IV. Results of the determination of nitrogen

Sample	mg	N		
		found %	calcd. %	error %
Aspartic acid	3.697	10.53	10.52	+ 0.01
	3.311	10.45	10.52	— 0.07
Acetanilide	3.846	10.39	10.36	+ 0.03
	2.208	10.38	10.36	+ 0.02
Sulphathiazole	3.218	16.48	16.46	+ 0.02
	2.872	16.39	16.46	— 0.07
Phenacetin	3.328	7.73	7.82	— 0.09
	3.295	7.91	7.82	+ 0.09
o-Nitrophenol	6.274	10.08	10.07	+ 0.01
	3.212	10.00	10.07	— 0.07
Diphenylamine	4.056	8.31	8.28	+ 0.03
	3.023	8.33	8.28	+ 0.05
Hippuric acid	5.765	7.86	7.81	+ 0.05
	4.477	7.82	7.81	+ 0.01
p-Toluenesulphonamide	3.181	8.15	8.18	— 0.03
	2.637	8.17	8.18	— 0.01
Br-acetanilide	4.384	6.49	6.54	— 0.05
	5.111	5.50	6.54	— 0.04
2,4-Dinitrochlorobenzene	4.344	13.88	13.83	+ 0.05
	3.414	13.77	13.83	— 0.06

Table V. Results of test analyses for nitrogen carried out during routine work*

Number of results	mean error	standard deviation of errors
$n = 99$	$m\,\Delta = +\,0.07\%$	$\hat{\sigma} = 0.13\%$

* Results were obtained by Miss *I. Isobe.*

The reduced copper placed at the end worked satisfactorily, as *Mitsui* states[16]. Addition of oxygen[17,19–21] to carbon dioxide was unnecessary, as the copper oxide in the boat evolved sufficient oxygen. Insertion of a copper oxide gauze after the sample boat was also unnecessary. Contrary to the observation of *Kirsten*[22], fresh copper oxide did not seem to retain

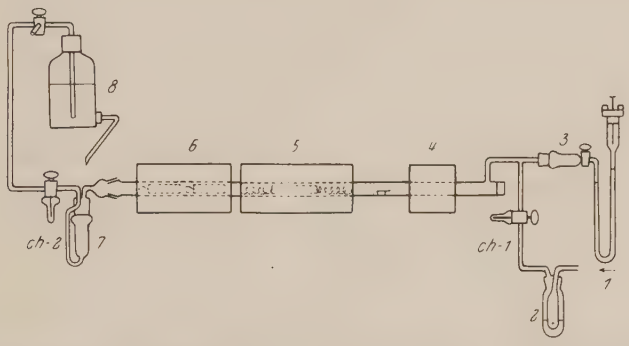


Fig. 8. Apparatus for the determination of sulphur (and halogen). *1* Oxygen inlet. *2* Sodium bicarbonate scrubber. *3* Manometer. *4* Movable furnace. *5* Stationary furnace, quartz-wool and 10-cm platinum contact. *6* Furnace for silver-gauze roll, 16-cm. *7* $CaCl_2$ tube. *8* Mariotte's bottle. *ch-1* and *-2* chokes

nitrogen dioxide, but the reoxidation of copper oxide during the gas-exchange procedure was effective for combustion. A continual flow of carbon dioxide during the combustion[23,10] helped to reduce back-flow of the sample-vapour. Although samples could be burned in carbon dioxide at 1150° C[22,24], this required rather a long time.

The movement of the movable furnace was a little different from that in the determination of carbon and hydrogen. The difference presumably arises from the different mode of combustion.

V. Determination of Sulphur (and Halogens)[25]

A. Apparatus and principles

The principle of the method was that developed by *Stragand* and *Safford*[26] and by *Zinneke*[27]: the sample was oxidized in a stream of oxygen in the presence of a platinum contact; sulphur or halogen was caught by a hot silver-gauze roll, which was heated at 425° (sulphur) or 550°

(halogen), and the amount was determined gravimetrically. *Sakamoto* and others[28,29] rendered the procedure of *Stragand* and *Safford* automatic. The present author examined the analytical conditions and determined them as follows: a sample is burned with oxygen in the presence of quartz wool and a platinum contact. Sulphur and/or halogen are caught by two silver-gauze rolls of 5 cm each, which are coarsely wound with platinum wire and heated at 400–450° in both cases. Recently, *Mitsui* designed an apparatus in which he used electrolytic silver wool filled in a small quartz tube[30].

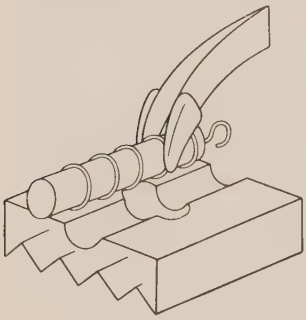


Fig. 9. Silver-gauze roll wound with platinum wire and its cooler

The general design of the apparatus is shown in Fig. 8. The silver-gauze roll is prepared from a sheet of silver-gauze of 45-mesh, and is wound coarsely with platinum wire of 0.5 mm in diameter (Fig. 9).

B. Procedure

The main conditions for the analysis are indicated in Table I, and the procedure of automatic combustion and sweeping is the same as for the other determinations. After completion of the sweeping procedure, the silver-gauze rolls are cooled on a chromium-plated copper cooling block (Fig. 9) for ten minutes and are weighed, accomplishing a complete analysis in fifty minutes.

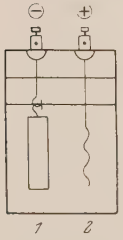


Fig. 10

Apparatus for the electrolytic reduction of the silver-gauze roll. *1* Silver-gauze roll. *2* Platinum electrode. The solution is 1 vol.-% of sulphuric acid

The silver-gauze rolls should not be used continuously, but are reduced electrolytically for ten minutes with an electrolytic current of about 100 mA, in a dilute sulphuric acid solution, after each analysis (Fig. 10). The reduced rolls are washed and dried at 110°. But if a silver-gauze roll is attacked so severely that the silver becomes fragile, the reduced roll should be shaken with water in a test tube to remove small fragments of silver; the roll is then washed and heated red-hot over a gas-burner so as to fuse small particles of silver which might drop off during the analysis. This procedure is important in the determination of iodine.

When the sample contains halogen, the weighed silver-gauze roll is placed in a test-tube with a 10-ml portion of water, and the whole is immersed in a boiling water-bath for fifteen minutes to dissolve off silver sulphate. The roll is then washed with distilled water, and water is removed with acetone, lest vigorous boiling might detach part of the silver halide. After the acetone has almost completely evaporated in the air, the roll is heated at 110° for five minutes. The loss of weight corresponds to silver sulphate.

Platinum contacts whose catalytic power is lowered should be reactivated by a hot solution of about 20% nitric acid.

C. Results and discussion

The results of the analyses of several test materials are shown in Table VI. Although the results of halogen determinations were satisfactory in the laboratory, they were not so good in routine work, owing to the fact that halogen is weighed as halogen itself, while sulphur is weighed as sulphate.

Table VI. Results of the determination of sulphur and halogen

Sample	mg	element	sulphur or halogen %		
			found	calcd.	error
p-Toluenesulphonamide ..	3.055	S	18.86	18.73	+ 0.13
	5.970		18.56	18.73	— 0.17
Sulphathiazole	2.757	S	25.22	25.12	+ 0.10
	3.587		25.11	25.12	— 0.01
Sulphur	1.709	S	99.57	100.00	— 0.43
	1.796		99.69	100.00	— 0.31
DDT.....	3.879	Cl	49.99	50.09	— 0.10
	3.449		50.16	50.09	+ 0.07
Br-acetanilide	6.211	Br	37.10	37.33	— 0.23
	4.348		37.51	37.33	+ 0.18
Iodine	5.569	I	100.08	100.00	+ 0.08
	6.672		100.00	100.00	± 0.00
2,4-Dinitrochlorobenzene .	6.193	Cl	17.79	17.53	+ 0.26
	6.024		17.31	17.53	— 0.22

Results of sulphur determinations calculated either from SO_4 or water-extracted Ag_2SO_4, in successive determinations, are summarized in Table VII, where *p*-toluenesulphonamide was used as the test material.

Table VII. Determination of sulphur, calculated from SO_4 and from Ag_2SO_4**

Sample *, mg	SO_4 mg	S %	Ag_2SO_4	S %
3.466	1.316	— 0.28	6.288	— 0.09
3.198	1.798	— 0.04	5.899	+ 0.23
4.863	2.614	— 0.76	8.867	+ 0.01
3.868	2.178	+ 0.07	7.131	+ 0.22
2.948	1.655	+ 0.01	5.442	+ 0.25
3.592	2.091	+ 0.70	6.599	+ 0.17

* *p*-Toluenesulphonamide.

** The results were obtained by Miss *M. Suzuki*.

Results of test analyses of sulphur, obtained over a year's period during routine analyses, are summarized in Table VIII, where *p*-toluenesulphonamide (3–5 mg) was used chiefly as the test material. The

Table VIII. Results of test analyses in the determination of sulphur

Number of results	mean error	standard deviation of errors
$n = 83$	$m\,\Delta\% = -0.037$	$\hat{\sigma}\,\% = 0.41$

standard deviation of the errors was rather large. One of the reasons for this may be spattering of the quartz-wall by silver, which takes place when the temperature of the furnace for the silver-gauze roll is over 450°, or after a lot of determinations even when the temperature is maintained below 450°.

Electrolytic reduction of the silver-gauze roll was preferable to the extraction procedure proposed by *Stragand* and *Safford*, because the silver-gauze roll became progressively thinner when the latter procedure was used.

The shaking and fusing procedure to avoid errors from loose silver particles is not so important in the determination of sulphur, because sulphate does not penetrate deep into the silver wire, whereas iodine penetrates and makes the silver fragile after a long time (see the section on oxygen determination).

The platinum wire wound around the silver-gauze roll prevents direct contact of the roll with the quartz-wall. This is particularly significant in the determination of iodine, because silver iodide occasionally crystallizes on the surface of the silver.

VI. Determination of Oxygen[31, 38, 39]

A. Apparatus and principles

The oxygen in the sample is converted quantitatively into carbon monoxide, which is oxidized by iodine pentoxide by the method developed by *Schütze*[32], *Zimmermann*[33], *Unterzaucher*[34, 35], *Oita* and *Conway*[36] and others. The iodine liberated is subsequently caught by a hot silver-gauze roll as in the determination of sulphur and halogen[38, 39].

The general design of the apparatus is illustrated in Fig. 11.

Commercial nitrogen is first purified by oxidation, and is then freed from oxygen, acidic gases and moisture. The length of the furnace for copper oxide (Fig. 11, *2*), which oxidises impurities in the nitrogen, and that for reduced copper (Fig. 11, *6*), which removes oxygen, is in each case 8 cm, and both are heated at 550–600°. An electrolytic hydrogen-generator (*4*) is attached, which contains dilute sulphuric acid solution,

and the electrodes are connected to 10-volt terminals through a 2-kΩ variable resistance and an ammeter reading to 150 mA at full scale. The hydrogen serves to remove oxygen as water.

The 50 cm long quartz reaction-tube is filled with an 8-cm layer of quartz-wool, a 5-cm layer of reduced copper, a 15-cm layer of granular carbon and a plug of platinum-wool. The layer of copper and carbon is heated by a stationary furnace 20 cm long (*13*), whose temperature is maintained at 1150 $\pm$ 5° with the help of a stabilizer (Fig. 12) developed

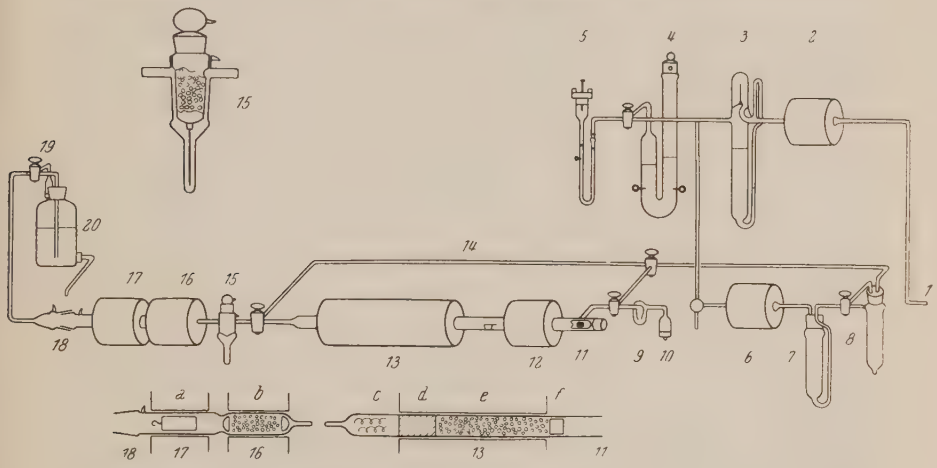


Fig. 11. Apparatus for the determination of oxygen. *1* Nitrogen inlet. *2* Copper oxide. *3* Flow meter. *4* Electrolytic hydrogen generator. *5* Manometer. *6* Copper. *7* Silica gel-$CaCl_2$. *8* Ascarite anhydrone. *9* Bubble counter. *10* Hopcalite. *11* Piece of iron sealed in a glass tube. *12* Movable furnace. *13* Stationary furnace. *14* Side path. *15* Ascarite scrubber with an injection-needle. *16* Iodine pentoxide. *17* Silver-gauze roll. *18* CO-determination-tube. *19* Ascarite tube. *20* Mariotte's bottle. *ch-1* and *-2* chokes. *a* Silver-gauze roll. *b* Iodine pentoxide. *c* Quartz-wool. *d* Reduced copper. *e* Carbon. *f* Platinum-wool plug

from that of *Schöniger*[37]. The length of the copper layer must be controlled according to the distribution of temperature in the stationary furnace.

The CO determination-tube (Fig. 11, *18*) is 20 cm long, and is filled with an 8-cm layer of iodine pentoxide which is held in place with quartz-wool. The length of the furnace for the iodine pentoxide is 8 cm, and its temperature is 115°; that for the silver-gauze roll is also 8 cm long and runs at 440–450°. These two furnaces must be placed 1 cm apart, lest the iodine pentoxide is over-heated.

The length of the silver-gauze roll is 5 cm, and it is coarsely wound with platinum wire, as for the determination of sulphur and halogen.

The principles and the design of the apparatus for automatic pyrolysis are the same as for the other determinations. The first choke is the injection-needle of the flow-meter (Fig. 11, *3*), and the second one is combined with an ascarite scrubber (*15*).

Carbon is prepared from benzene in the laboratory. Iodine pentoxide is prepared for use as follows: commercial iodine pentoxide is dissolved in a little quantity of water; sufficient concentrated nitric acid is added to the syrupy solution to produce a final concentration of 70 volume per-cent; the mixture is heated over a boiling water-bath for one hour, when the reagent acid crystallizes.

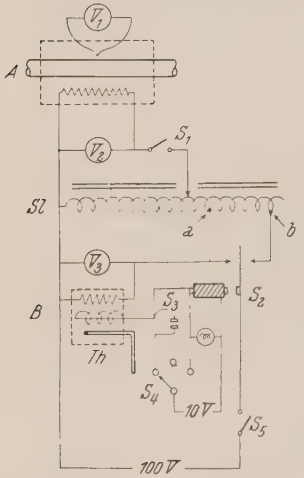


Fig. 12. Stabilizer for the stationary furnace. *A* High-temperature furnace (stationary canthal furnace). *B* Low-temperature furnace, with a bimetal switch (*S-3*) and thermometer (*Th*). *Sl* Slide regulator. *V-1* Thermocouple. *V-2* and *-3* 150 V voltmeters. *a* 100-volt tap. *b* 120-volt tap. S_{1-5} Switches

B. Procedure

The main conditions for the analysis are given in Table I. About thirty minutes before the analysis, nitrogen containing about 7% of hydrogen is passed through the apparatus at a rate of 10 ml/min. Since 15 mA of current generates hydrogen at a rate of about 0.1 ml/min, this concentration will require an electrolytic current as high as 100 mA. Because the content of oxygen in nitrogen is in general about 1.5%, at least 3% of hydrogen must be added to the nitrogen throughout the whole analysis.

About 4 mg of sample is inserted into the quartz reaction-tube, and about 150 ml of nitrogen is flushed backward, over fifteen minutes (*i. e.* at a rate of 10 ml/min) The direction of the nitrogen is then reversed, the rate of flow being once more 10 ml/min. The platinum boat is placed in position with the help of a magnet and a piece of iron sealed in a glass tube. (The tip should be indented, lest the boat is upset.) (Fig. 11, *11*.)

The automatic pyrolysis of the sample is performed in the same way and at the same rate as for the other determinations. However the temperature of the movable furnace is maintained above 900° for five minutes after it has reached the stationary furnace, or low results may be obtained; and the silver-gauze roll must be taken out exactly thirty minutes after the direction of the nitrogen flow is reversed, so as to keep the blank value constant. The roll is cooled and weighed as in the case of the determination of sulphur and halogens, and at the same time the next sample is placed in the reaction-tube, and the gas-exchange is performed. A complete analysis is accomplished in fifty minutes.

The electrolytic reduction of the silver-gauze roll is only necessary once a day, after it absorbs 30–40 mg of iodine. The procedure for this reduction has been described in the section on sulphur determination. The shaking and fusing procedure should not be omitted.

C. Results and discussion

Analytical results on various test samples are shown in Table IX. Results of successive test analyses are summarized in Table X, where data are arranged after the name of the samples applied. Results in

Table IX. Results of the determination of oxygen

sample	mg	oxygen %		
		found	calcd.	error
Sucrose	3.461	51.45	51.42	+ 0.03
	3.516	51.73	51.42	+ 0.31
Vanillin	5.733	31.51	31.55	— 0.04
	4.406	31.59	31.55	+ 0.04
Hippuric acid	5.769	26.88	26.58	+ 0.30
	3.649	26.79	26.58	+ 0.21
Acetoacetic acid	4.683	12.93	12.84	+ 0.09
	2.942	13.00	12.84	+ 0.16
Aspartic acid	4.282	48.52	48.09	+ 0.43
	2.612	48.08	48.09	— 0.01
Phenacetin	5.608	17.94	17.85	+ 0.09
	3.515	17.63	17.85	— 0.22
Br-benzoic acid	5.677	15.74	15.74	± 0.00
	5.085	15.64	15.74	— 0.10
Br-acetanilide	5.394	7.67	7.48	+ 0.19
	4.687	7.68	7.48	+ 0.20
2,4-dinitrochlorobenzene	4.611	31.49	31.06	+ 0.43
	4.197	31.57	31.06	+ 0.51
p-toluenesulphonamide	4.940	18.27	18.66	— 0.39
	4.307	18.63	18.66	— 0.03
Sulfathiazole	3.700	12.28	12.56	— 0.28
	4.157	12.79	12.56	+ 0.23
DDT	6.041	0.17	0.00	+ 0.17
	5.360	0.16	0.00	+ 0.16

column *A* were obtained with a reaction tube in which the lengths of the copper oxide layer was 3 cm. For the results in columns *B* and *C* the length was 5 cm. The shaking and fusing procedure was not carried out on the silver-gauze roll in the determinations of column *A*. Hydrogen was not added in the determinations of column *A*, about 3% was added for those in column *B*, and about 7% for those in column *C*.

Blank values were about 100 μg as iodine or about 25–30 μg as oxygen during thirty minutes, *i. e.* per analysis in general. Use of quartz-wool to retain the carbon made the blank larger. Although the amount could not be reduced, fluctuation of the blank value was reduced by keeping both the temperature of the stationary furnace and the time for the pyrolysis and sweeping as constant as possible. In two separate determinations the fluctuations of blank values gave $\hat{\sigma}_{\text{blank}} = 4\,\mu\text{g}$ $(n = 10)$,

Table X. Results of successive analyses of oxygen

		a sucrose	b aspartic acid	c hippuric acid	sum. a—c	p-toluene-sulphon-amide	sum. a—d
A	Calcd. value %	51.42	48.09	26.58		18.66	
	Number of results (n)	24	10	11	45	10	
	Mean error (Δ%) ...	— 0.15	+ 0.15	— 0.04	— 0.02	+ 1.10	
	Standard deviation ($\hat{\sigma}$%)	0.31	0.25	0.37	0.33	0.28	
B	Number of results (n)	26	5			16	47
	Mean error (Δ%) ...	— 0.03	— 0.05			+ 0.06	— 0.006
	Standard deviation ($\hat{\sigma}$%)	0.23	0.08			0.18	0.21
C	Number of results (n)	12 sucrose samples and others					20
	Mean error (Δ%) ...						— 0.079
	Standard deviation ($\hat{\sigma}$%)						0.26

A: Obtained with a tube with a 3-cm layer of reduced copper, without hydrogen, and without treatment of the silver-gauze roll.

B, C: Obtained with a tube with a 5-cm layer of reduced copper, with hydrogen, and with a treatment of the silver-gauze roll.

as oxygen, in both cases. The value corresponds to $\hat{\sigma}_{0\%} = 0.1\%$, when 4 mg of sample is analysed. Care must be taken that the reaction tube is fixed in the stationary furnace, and that the carbon filling is compact even after long use.

It has been shown that the oxidation of impurities in nitrogen is effective for at least some commercial supplies[29]. By the addition of hydrogen, oxygen could easily be reduced to a negligible amount using less than 50 g of reduced copper[39]. No inhibitive action by hydrogen was indicated. Use of copper was effective in eliminating errors caused by sulphur, as proposed by *Oita* and *Conway*[36].

It may be concluded that the determination of oxygen after silver treatment is satisfactory. Application of the silver method simplifies the analytical procedure and makes it correspond to the other determinations in accuracy, because 1 mg of iodine corresponds to 0.3152 mg of oxygen[38].

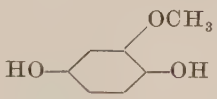
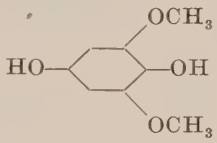
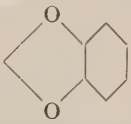
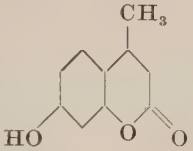
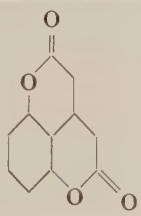
Recently, *Mitsui* has applied the electrolytic silver method used in halogen determination[30] to the determination of oxygen[40].

VII. Conclusion

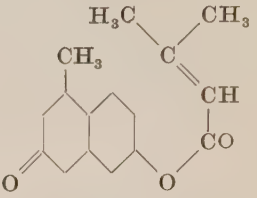
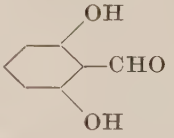
A. Complete analyses

Results of complete analyses during January, 1957, on unknown samples, are illustrated in Table XI. The purities of the samples were

Table XI. Results of complete analyses (January 1957)

No.	C%	H%	N%	O%	Total%	structure
2463	60.24 (59.99)	6.00 (5.75)		34.27 (34.26)	100.51	
2464	56.53 (56.46)	5.73 (5.92)		37.71 (37.61)	99.97	
2487	84.29 (84.75)	6.56 (6.57)		8.89 (8.68)	99.74	$C_6H_5 \cdot O \cdot CH_2 \cdot C_6H_5$
2496	62.82 (?)	8.34 (?)		23.56 23.57 (?)	96.2 ?	?
2497	55.72 (?)	7.22 (?)		28.84 (?)	93.7 ?	?
2512	60.93 (60.87)	4.70 (4.38)		34.96 (34.75)	100.59	
2517	69.73 a = (70.20) b = (69.88)	6.70 (7.37) (6.84)	0.00 (6.83)	24.36 (15.60) (23.28)	100.79	a = ? b = $C_6H_5 \cdot (CH_2)_2 \cdot CO$ $HOOC \cdot CH_2 \cdot CH_2$
2534	67.66 (68.18)	4.41 (4.58)		28.76 (27.25)	100.83	
2546	66.45 (66.36)	7.08 (7.28)	6.00 (5.95)	20.47 (20.40)	99.90	$C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH \cdot COOC_2H_5$ $NH \cdot CO \cdot CH_3$
2553	62.93 (64.70)	3.73 (3.95)		33.46 33.22 33.30 (31.35)	100.01	

(Continuation of the Table XI)

No.	C%	H%	N%	O%	Total %	structure
2554	69.47 (69.25)	5.39 (5.45)		24.43 (24.78)	99.29	
2555	60.90 (60.87)	4.52 (4.38)		34.45 (34.75)	99.87	
2577	52.68 (?)	9.05 (?)	0.00 (?)	39.01 (?)	100.74	

( ) Expected value.

Summarising (omitting Nos. 2496 and 2497), $n = 11$, mean = 100.21% and standard deviation = 0.51%.

unknown. Most of the expected values and chemical structures were communicated after the analyses.

No. 2496 and No. 2497 were antibiotics and their chemical compositions are still unknown. The presence of unidentified elements was suggested, because the total values of analytical values were less than 100%.

The carbon value of No. 2487 and the oxygen value of No. 2517 may be erroneous, because the other values coincided closely with the calculated values.

Expected nitrogen was not found in samples No. 2517 a and No. 2577, and the presence of oxygen was proved.

The data of Table XII were obtained by Mrs. *K. Satô*, Miss *M. Suzuki* and Miss *I. Isobe* as well as by the author.

B. Conclusion

In conclusion, the pyrolysis of every sample could be controlled automatically by this method according to the amount and the nature of the compound. The method was applied satisfactorily to the determinations of carbon and hydrogen, nitrogen, sulphur and oxygen. The method was also used for a rough determination of halogen. In every determination, the pyrolysis and sweeping is completed in thirty minutes, provided the amount of a sample is 3–4 mg, and the measurement is carried out after fifteen minutes, accomplishing a complete determination in fifty minutes.

The use of the same general apparatus and the similarity of the procedures facilitate the training of analysts. A trained analyst can operate two sets of apparatus at the same time without confusion.

Author's acknowledgements are due to Dr. *K. Goto*, Dr. *K. Sahashi*, Prof. *Y. Sumiki*, Prof. *S. Funahashi*, Dr. *B. Maruo*, Dr. *S. Tamura*, Prof. *M. Matsui*, who have been interested in this study. Acknowledgement is also due to Prof. *T. Mitsui* of Kyoto University, who encouraged the author during the experiments. Mr. *Y. Ishii* and Mr. *S. Miyano* provided many test samples. Some of the experiments were carried out through the assistance of Mitamura Co.

The author is much obliged to the analysts who helped him by actual performance of many of the analyses, and provided much information which helped to improve the apparatus and the procedures. The names of these analysts are: Mrs. *Y. Sugimoto*, Mrs. *K. Iida*, Mrs. *S. Miyao*, Miss *Y. Murase*, Mrs. *T. Matsumoto*, Mrs. *M. Ishii*, Miss *M. Ogata*, Mrs. *T. Sagara*, Mrs. *K. Satô*, Miss *M. Suzuki* and Miss *I. Isobe*. Mr. *E. Hayashi* helped the author in the study of the oxygen determination.

Summary

A method for automatically controlled combustion in organic elementary micro analysis is described. The movable furnace, which is 8 cm long and normally travels at a rate of 13 mm/min, stops automatically when the pressure in the combustion tube rises. In consequence, samples can be burned automatically according to the amount and the mode of combustion. The method has been applied satisfactorily to the determinations of carbon-hydrogen, nitrogen, sulphur and oxygen. Several improvements in these determinations are also proposed.

Zusammenfassung

Ein Verfahren für die automatische Regulierung des Verbrennungsvorganges bei organischen Mikroelementaranalysen wurde beschrieben. Der 8 cm lange bewegliche Ofen wird normalerweise mit einer Geschwindigkeit von 13 mm/min vorgerückt und automatisch angehalten, wenn der Druck im Verbrennungsrohr ansteigt. Die Einwaage kann daher ihrer Größe und ihrer Verbrennungsart entsprechend automatisch erhitzt werden. Das Verfahren bewährte sich für die Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes, des Stickstoffes, des Schwefels und des Sauerstoffes. Einzelne Verbesserungen dieser Bestimmungsmethoden werden ebenfalls vorgeschlagen.

Résumé

Description d'une méthode de combustion automatique pour la microanalyse élémentaire organique. Le four mobile, qui mesure 8 cm de long et se déplace normalement à la vitesse de 13 mm/mn, s'arrête automatiquement quand la pression s'élève dans le tube à combustion. Il en résulte qu'il est possible d'effectuer la combustion automatique d'échantillons divers

en fonction du poid et de la combustibilité de la prise d'essai. La méthode a été appliquée avec succès aux déterminations du carbone et de l'hydrogène, de l'azote, du soufre et de l'oxygène. Plusieurs améliorations sont également proposées pour ces différentes déterminations.

Bibliography

[1] *F. Pregl*, Die quantitative organische Mikroanalyse, 6. Aufl., neubearbeitet von *H. Roth*. Wien: Springer-Verlag. 1949.

[2] *G. L. Royer, A. R. Norton* and *O. E. Sundberg*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **12**, 688 (1940).

[3] *K. Hozumi, K. Imaeda* and *H. Tanaka*, J. Pharm. Soc. Japan **72**, 658, 661 (1952).

[4] *R. O. Clark* and *G. H. Stillson*, Analyt. Chemistry **19**, 423 (1947).

[5] *H. Sakamoto* and *M. Hirai*, J. Pharm. Soc. Japan **72**, 1363 (1952).

[6] *M. Hirai*, J. Pharm. Soc. Japan **72**, 511, 515 (1952).

[7] *T. Mitsui*, Japan Analyst **2**, 3 (1953).

[8] *T. Mitsui*, Bull. Research Inst. for Food Science, Kyoto Univ. **11**, 26 (1953).

[9] *F. O. Fischer*, Analyt. Chemistry **21**, 827 (1949).

[10] *T. T. White, C. J. Penther, P. C. Tait*, and *F. R. Brooks*, Analyt. Chemistry **25**, 1664 (1953).

[11] *T. Mitsui*, Kagaku no Ryoiki **5**, 687 (1951).

[12] *T. Mitsui*, Bull. Research Inst. for Food Science, Kyoto Univ. **17**, 20 (1955).

[13] *T. Kôno, S. Shimokobe, M. Nakayama, M. Ogata*, and *K. Mitsui*, Japan Analyst **3**, 224 (1954).

[14] *T. Kôno, K. Satô, M. Suzuki*, and *I. Isobe*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **28**, 744 (1954).

[15] *H. Gysel*, Helv. Chim. Acta **22**, 1088 (1939); **35**, 802 (1952).

[16] *T. Mitsui*, Japan Analyst **2**, 117 (1953).

[17] *W. C. Alford*, Analyt. Chemistry **24**, 881 (1952).

[18] *T. Kôno. S. Shimokobe, M. Nakayama*, and *M. Ogata*, Japan Analyst **2**, 137 (1953).

[19] *J. Unterzaucher*, Chem. Ing. Techn. **22**, 128 (1950).

[20] *A. Dirscherl, W. Padowetz*, and *H. Wagner*, Mikrochem. **38**, 271 (1951).

[21] *T. D. Parks, E. L. Bastin, E. J. Agazzi*, and *F. R. Brooks*, Analyt. Chemistry **26**, 229 (1954).

[22] *W. Kirsten*, Analyt. Chemistry **25**, 74 (1953).

[23] *A. F. Colson*, Analyst **75**, 264 (1950).

[24] *W. Kirsten*, Mikrochem. **39**, 245 (1952).

[25] *T. Kôno, K. Satô, M. Suzuki*, and *I. Isobe*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **29**, 560 (1955).

[26] *G. L. Stragand* and *H. W. Safford*, Analyt. Chemistry **21**, 625 (1949); *H. W. Safford* and *G. L. Stragand*, Analyt. Chemistry **23**, 520 (1951).

[27] *F. Zinneke*, Z. analyt. Chem. **132**, 175 (1951).

[28] *S. Sakamoto, R. Hayazu*, and *R. Takenaka*, J. Pharm. Soc. Japan **70**, 287 (1950).

[29] *S. Sakamoto* and *T. Kaneko*, Pharm. Bull. (Japan) **1**, 98 (1953).

[30] *T. Mitsui* and *H. Sato*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1603.

[31] *T. Kôno, E. Hayashi, M. Nakayama, K. Satô, M. Suzuki*, and *I. Isobe*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **28**, 581 (1954); *T. Kôno, K. Satô, M. Suzuki*, and *I. Isobe*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **28**, 804 (1954).

[32] *M. Schütze*, Z. analyt. Chem. **118**, 245 (1939).
[33] *W. Zimmermann*, Z. analyt. Chem. **118**, 258 (1939).
[34] *J. Unterzaucher*, Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 391 (1940).
[35] *J. Unterzaucher*, Analyst **77**, 584 (1952); Mikrochem. **36/37**, 706 (1951).
[36] *I. J. Oita* and *H. S. Conway*, Analyt. Chemistry **26**, 600 (1954).
[37] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 320.
[38] *T. Kôno, K. Satô, M. Suzuki, and I. Isobe*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **29**, 936 (1955).
[39] *T. Kôno, K. Satô, M. Suzuki*, and *I. Isobe*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **31**, 587, 622 (1957).
[40] *T. Mitsui*, Reported at the 12th meeting of micro-analysis, Tokyo, November 1956.

Aus dem Institut für allgemeine Chemie der Technischen Universität Budapest

Mikrobestimmung des Fluors durch direkte argentometrische Titration des Chloridgehaltes des PbClF-Niederschlages

Von

L. Erdey, L. Mázor und **M. Pápay**

(Eingegangen am 28. September 1957)

Zur gewichtsanalytischen Bestimmung des Fluors wird meistens Bleichloridfluorid wegen seines großen Molekulargewichtes und seiner verhältnismäßig geringen Löslichkeit herangezogen. Um die Schwierigkeiten des gewichtsanalytischen Bestimmungsverfahrens zu vermeiden, wurde von mehreren Seiten vorgeschlagen, den Chloridgehalt des abfiltrierten und wieder gelösten Niederschlages entweder nach *Volhard*[1] oder merkurimetrisch[2] zu titrieren. Einige Verfasser[3] fällen den Niederschlag mit überschüssiger, gemessener Menge einer chloridhaltigen Lösung und titrieren den Überschuß im Filtrat nach *Volhard* oder direkt argentometrisch gegen Fluoreszein oder Diphenylaminblau als Indikator. Es ist auch ein Verfahren bekannt, wonach der Fluorgehalt aus der komplexometrischen Bleibestimmung des Niederschlages berechnet wird[4].

Alle diese Verfahren können unter Verwendung 0,1-n Maßlösungen mit gutem Erfolg angewandt werden. Da aber bei Gebrauch von 0,01-n oder noch verdünnteren Maßlösungen der Endpunkt der Titration nach *Volhard* nur schwer wahrzunehmen ist, kann diese Methode im Mikromaßstab nicht verwendet werden. Dies gilt auch für die direkten argentometrischen Methoden. Das komplexometrische Bleibestimmungsverfahren gibt dagegen auch im Mikromaßstab gute Ergebnisse, deren Fehler bei einem Fluorgehalt von 0,2 bis 2 mg nur 1,5 bis 2% beträgt.

Mehrere Autoren beschäftigen sich mit der Frage der Zusammensetzung des Bleichloridfluoridniederschlages. Obwohl einige Autoren[4–6] die Zusammensetzung dieses Niederschlages auf Grund der Bestimmung des Chlorid- und Bleigehaltes nicht für stöchiometrisch hielten, läßt sich feststellen, daß eine größere Abweichung in der Zusammensetzung nur dann zu beobachten ist, wenn die angewandte Fällungsart nicht einwandfrei war (so z. B. wegen Verunreinigung mit basischem Bleichlorid); eine

geringfügige Abweichung beeinträchtigt aber die erwünschte Genauigkeit der Fluorbestimmung nicht.

L. Erdey und Mitarbeiter[7] fanden im Laufe ihrer Arbeiten über Variaminblau (4-Amino-4′-methoxy-diphenylamin) als Redoxindikator, daß sich eine chloridhaltige Lösung in Anwesenheit dieses Indikators mit Silbernitratmaßlösung direkt titrieren läßt. Der Endpunkt der Titration kann sogar im Falle 0,001-n Lösungen mit Hilfe von Variaminblauacetat als Redoxindikator genau angezeigt werden. Der Indikator zeigt schon einen geringfügigen Überschuß an Silberionen mit blauer Farbe scharf an, da diese auf den Indikator eine Oxydationswirkung ausüben. Das Verfahren verwandten wir zur Halogenbestimmung (Cl, Br, J) organischer Verbindungen[8] nach deren Verbrennung im sauerstoffgefüllten Kolben nach *Schöniger*[9]. Im Laufe unserer Versuche fanden wir, daß diese Methode sehr genaue Ergebnisse liefert, und sich zur maßanalytischen Bestimmung löslicher Chloride eignet. Wir setzten uns das Ziel, diese Methode auch auf die Bestimmung schwer löslicher Bleisalze auszudehnen, um den Fluorgehalt durch Titration des Bleichloridfluorids ermitteln zu können.

Zur quantitativen Fällung eines Bleichloridfluoridniederschlages von stöchiometrischer Zusammensetzung empfiehlt es sich, bei p_H 4,5 bis 4,6 zu arbeiten. Die Abscheidung beginnt schon bei p_H 3,5 und der Niederschlag löst sich erst in wesentlich stärker saurem Medium (bei p_H 1 bis 1,5). Da sich die direkte argentometrische Titration der Chloridionen in Anwesenheit von Variaminblau als Redoxindikator am vorteilhaftesten bei p_H 3,6 durchführen läßt, muß man dafür sorgen, daß das Bleichloridfluorid bei p_H 3,6 noch in gelöstem Zustand vorliegt. Verwendet man zur Auflösung des Bleichloridfluoridniederschlages Äthylendiamintetraacetat (Komplexon III), so scheidet sich der Niederschlag bei p_H 3,6 noch nicht ab und die Titration kann ohne Schwierigkeit durchgeführt werden.

Arbeitsvorschrift

Reagenzien

1. *0,1-m Komplexon III-Lösung:* 18,6 g Äthylendiamintetraacetat werden mit Hilfe von Natriumhydroxyd in Wasser gelöst, die Lösung mit Essigsäure neutralisiert und auf 500 ml verdünnt.

2. *Pufferlösung vom p_H 3,6:* 925 ml 0,2-m Essigsäure + 75 ml 0,2-m Natriumacetatlösung.

3. *Essigsäure, 1:10.*

4. *0,1%ige Variaminblauacetat-Indikatorlösung:* 0,2 g 4-Amino-4′-methoxy-diphenylamin-HCl werden mit wenig Wasser verrieben, mit einigen Tropfen 0,1-n Ascorbinsäurelösung bis zur Entfärbung reduziert und mit einigen ml Wasser in einen 50-ml-Scheidetrichter gespült. Sodann

wird die Base durch Zugabe von 5 ml 1-n Natronlauge gefällt. Danach werden 20 bis 25 ml Benzol in den Scheidetrichter gebracht, durchgeschüttelt und nach Auflösung der Base die wäßrige Schicht abgelassen. Schließlich werden 20 ml 20%ige Essigsäurelösung in den Scheidetrichter gebracht, die Base durch Extraktion in der essigsauren Phase gelöst und die fertige essigsaure Indikatorlösung abgelassen. Sie ist etwa 2 Wochen haltbar.

5. *0,1-, 0,01-, 0,005- und 0,002-n Silbernitratlösungen.*

Um die Genauigkeit der Methode zu ermitteln, wurden zuerst Bleichloridfluorid p. a. und Bleichlorid p. a. in je einen Kolben eingewogen und mit 10 ml 0,1-m Komplexon III-Lösung versetzt, worin sich diese Salze auch in der Kälte rasch lösen. Danach wurde mit Essigsäure (1 : 10) neutralisiert und mit 10 ml Pufferlösung der geeignete p_H-Wert eingestellt. Nach Zugabe von 5 Tropfen Indikatorlösung wurde je nach der eingewogenen Menge mit Silbernitratlösung geeigneter Normalität mit einer gleichmäßigen Geschwindigkeit solange titriert, bis die vom ausfallenden Niederschlag milchig trübe Lösung eine beständige blaßviolette Färbung annahm.

Tabelle 1

Einwaage mg $PbCl_2$	Verbrauch ml $AgNO_3$		mg $PbCl_2$ gefunden	Δ mg	Δ %
200,4	14,34	0,1-n	199,4	— 1,0	0,5
212,3	15,32	0,1-n	213,0	+ 0,7	0,35
235,4	16,85	0,1-n	234,3	— 1,1	0,47
250,4	17,98	0,1-n	250,0	— 0,4	0,16
277,3	19,82	0,1-n	275,6	— 1,7	0,60
17,4	12,94	0,01-n	18,0	— 0,6	3,4
23,3	16,61	0,01-n	23,1	— 0,2	0,86
Einwaage mg PbClF	Verbrauch ml $AgNO_3$		mg PbClF gefunden	Δ mg	Δ %
118,9	4,55	0,1-n	119,0	+ 0,1	0,08
131,6	5,05	0,1-n	132,3	+ 0,7	0,53
25,21	9,59	0,01-n	25,10	— 0,11	0,44
25,30	9,72	0,01-n	25,45	+ 0,15	0,59
49,06	18,65	0,01-n	48,80	— 0,26	0,49
50,85	19,35	0,01-n	50,62	— 0,23	0,45
61,15	23,41	0,01-n	61,26	+ 0,11	0,18
3,82	2,97	0,005-n	3,89	+ 0,07	1,83
4,96	3,77	0,005-n	4,93	— 0,03	0,60
6,82	5,25	0,005-n	6,87	+ 0,05	0,73
11,55	8,83	0,005-n	11,55	0,0	0,0
4,33	8,33	0,002-n	4,36	+ 0,03	0,68
4,82	9,23	0,002-n	4,83	+ 0,01	0,21
7,00	13,40	0,002-n	7,01	+ 0,01	0,11
15,04	28,78	0,002-n	15,06	+ 0,02	0,13

1 ml 0,1-n Silbernitratlösung ist 26,167 mg PbClF bzw. 13,906 mg $PbCl_2$ äquivalent.

Die Titrationsergebnisse sind aus Tabelle 1 zu entnehmen. Wie daraus ersichtlich, liefert die Titration auch mit 0,002-n Maßlösung genaue Ergebnisse.

Weiters wurde die Abtrennung des Bleichloridfluoridniederschlages aus Anteilen einer Natriumfluoridlösung bekannter Konzentration folgendermaßen durchgeführt:

Das p_H der Lösung wurde mit verd. Salpetersäure unter Anwendung von Universalindikatorpapier auf 4 bis 4,5 eingestellt und sodann mit 10 ml gesättigter Bleichloridlösung versetzt. Nach Aufkochen wurde die Lösung mit dem Niederschlag 2 Stunden stehengelassen, wonach die Mutterlauge mit Hilfe eines Filterstäbchens G 4 abgesaugt wurde. Der Niederschlag wurde sodann dreimal mit je 2 ml gesättigter Bleichloridfluoridlösung und nachher zweimal mit je 2 ml Wasser ausgewaschen und mit 10 ml 0,1-m Komplexon III-Lösung versetzt. Nach vollständiger Auflösung des Niederschlages wurde die Lösung quantitativ in den Titrierkolben gespült, mit verd. Essigsäure (1 : 10) neutralisiert und ihr p_H durch Zugabe von 10 ml Pufferlösung auf 3,6 eingestellt. Nach Zugabe des Indikators wurde wie zuvor titriert.

1 ml 0,1-n $AgNO_3$-Lösung $\equiv$ 1,9 mg F.

Die Titrationsergebnisse sind aus Tabelle 2 zu entnehmen.

Tabelle 2

Einwaage mg F	Entspricht mg PbClF	Verbrauch ml $AgNO_3$		mg F gefunden	Δ mg	Δ %
14,30	196,94	7,44	0,1-n	14,14	— 0,16	1,1
14,30	196,94	7,74	0,1-n	14,70	+ 0,40	2,8
14,30	196,94	7,54	0,1-n	14,33	+ 0,03	0,21
2,86	39,39	15,00	0,01-n	2,85	— 0,01	0,35
2,86	39,39	15,00	0,01-n	2,85	— 0,01	0,35
2,86	39,39	15,05	0,01-n	2,86	0,0	0,0
1,43	19,69	7,42	0,01-n	1,41	— 0,02	1,4
1,43	19,69	7,58	0,01-n	1,44	+ 0,01	0,7
1,43	19,69	7,68	0,01-n	1,46	+ 0,03	2,1
0,72	9,85	3,74	0,01-n	0,71	— 0,01	1,4
0,72	9,85	3,74	0,01-n	0,71	— 0,01	1,4
0,72	9,85	3,75	0,01-n	0,71	— 0,01	1,4
0,57	7,88	14,47	0,002-n	0,55	— 0,02	3,5
0,57	7,88	14,74	0,002-n	0,56	— 0,01	1,7
0,57	7,88	14,75	0,002-n	0,56	— 0,01	1,7
0,29	3,94	7,90	0,002-n	0,30	+ 0,01	3,4
0,29	3,94	7,90	0,002-n	0,30	+ 0,01	3,4
0,29	3,94	7,63	0,002-n	0,29	0,0	0,0
0,14	1,97	4,21	0,002-n	0,16	+ 0,02	14,0
0,14	1,97	3,95	0,002-n	0,15	+ 0,01	7,0
0,14	1,97	3,92	0,002-n	0,15	+ 0,01	7,0

Das Verfahren wurde auch zur Bestimmung des Fluorgehaltes organischer Verbindungen herangezogen. Die Verbrennung der organischen Substanz wurde nach unserem Verfahren[10] der C-H-Bestimmung durchgeführt, die bleifluoridhaltige Mennige mit Hilfe von konz. Salpetersäure und Wasserstoffperoxyd gelöst, die Acidität der Mennige-Lösung auf das p_H 4,5 eingestellt und mit Natriumchloridlösung gefällt. Das Abfiltrieren des Niederschlages und die Titration wurden wie oben beschrieben durchgeführt.

Die Analysenergebnisse einer viel und einer wenig Fluor enthaltenden organischen Verbindung sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Wie daraus ersichtlich, liefert das Verfahren auch bei organischen Substanzen genügend genaue Ergebnisse.

Tabelle 3

Untersuchte Substanz	Einwaage mg	Verbrauch ml $AgNO_3$		Gefunden		Δ %
				mg F	% F	
p-Fluorkalkon	5,600	11,50	0,002-n	0,437	7,82	— 0,59
ber. % F = 8,41	5,222	11,80	0,002-n	0,448	8,60	+ 0,19
	5,922	13,08	0,002-n	0,497	8,41	0,0
Tetrafluor-	6,848	27,00	0,01-n	5,13	75,00	— 1,0
äthylen	7,020	28,20	0,01-n	5,36	76,60	+ 0,6
ber. % F = 76,00	7,642	29,90	0,01-n	5,68	75,50	— 1,5

Zusammenfassung

Es wird über ein einfaches und rasches Fluorbestimmungsverfahren berichtet, wonach der Bleichloridfluoridniederschlag in Komplexon III-Lösung gelöst und sein Chloridgehalt in Anwesenheit von Variaminblauacetat als Redoxindikator direkt argentometrisch titriert wird. Das Verfahren läßt sich auch zur Fluorbestimmung in organischen Verbindungen mit gutem Erfolg heranziehen.

Summary

A report is given of a simple and rapid method for determining fluorine. In this, the lead chloride fluoride precipitate is dissolved in Complexone III solution and its chloride content is titrated directly with silver with variamin blue acetate as redox indicator. The procedure may be employed successfully also for determining fluorine in organic compounds.

Résumé

Description d'une méthode simple et rapide de dosage du fluor reposant sur la dissolution du précipité de fluochlorure de plomb dans une solution de complexon III et détermination de la teneur en chlore par titrage argentométrique direct en présence de l'acétate de bleu de variamine comme indicateur redox. Il est possible d'utiliser également cette méthode pour le dosage du fluor dans les combinaisons organiques.

Literatur

[1] *F. G. Hawley*, Ind. Eng. Chem. **18**, 573 (1926); *W. Kapfenberger*, Aluminium **24**, 428 (1942); *F. Specht*, Z. angew. Chem. **61**, 44 (1949); *A. Droske* und *H. Blumenthal*, Analyse der Metalle, Bd. 1, Schiedsverfahren, 2. Aufl. Berlin: Springer. 1949. S. 434; *F. Georch*, Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 126 (1950); *E. Schulek* und *P. Rózsa*, Hidrológiai Közlöny **27**, 69 (1947); *G. Pietzka* und *P. Ehrlich*, Angew. Chem. **65**, 131 (1953); *R. Belcher*, *E. F. Caldas* und *S. J. Clark*, Analyst **77**, 602 (1952); *R. Belcher* und *P. I. Brewer*, Analyt. Chim. Acta **8**, 235 (1953).

[2] *A. Ionesco-Matiu* und *S. Herscovici*, Bull. soc. chim. France (5) **1**, 1379 (1934); zitiert nach Chem. Zbl. **1935**, I, 2855; *J. V. Dubsky* und *J. Trtilek*, Mikrochem. **6**, 315 (1933).

[3] *I. Tananaeff*, Z. analyt. Chem. **99**, 18 (1934); *R. Geyer*, Z. anorg. Chem. **252**, 42 (1944); *E. Rinck*, Bull. soc. chim. France, Mém. (5), **15**, 305 (1948).

[4] *J. Laszlovszky*, Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 209 (1954).

[5] *J. H. Saylor*, *C. H. Deal*, Jr., *M. E. Larkin*, *M. E. Tavenner* und *W. C. Vosburgh*, Analyt. Chim. Acta **5**, 157 (1951).

[6] *S. Kaufman*, Analyt. Chemistry **21**, 582 (1949).

[7] *L. Erdey*, *I. Buzás* und *K. Vigh*, Acta Chimica Hung. (im Druck).

[8] *L. Erdey*, *L. Mázor* und *T. Meisel*, Mikrochim. Acta [Wien] **1958**, 140.

[9] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 869.

[10] *L. Mázor*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 113.

Aus der Chemischen Abteilung des Paracelsus-Institutes, Bad Hall, und dem Medizinisch-chemischen Institut und Pregl-Laboratorium der Universität Graz

Eine neue, einfache Jodbestimmung im Blutserum unter Anwendung der Isothermdiffusion*

Von

H. Spitzy, M. Reese und H. Skrube

Mit 7 Abbildungen

(Eingegangen am 2. November 1957)

Für das Studium des endogenen Jodhaushaltes und die Differentialdiagnose von Schilddrüsenkrankheiten[1] ist die Bestimmung des Jodgehaltes im Blutserum, unterschieden nach organischer und anorganischer Bindung, von großer Bedeutung. Trotzdem werden kaum Serumjodbestimmungen durchgeführt. Dies und die Vielzahl methodischer Veröffentlichungen mit zum Teil widersprechenden Ergebnissen bis in die jüngste Zeit zeigen, daß noch kein Verfahren bei praktischer Anwendung voll entspricht.

In einer früheren zusammenfassenden Darstellung[2] wurden prinzipielle Möglichkeiten nach experimentellen Erfahrungen diskutiert und Ergebnisse kritischer radioanalytischer Untersuchungen zu dem von *Klein*[3] in Anlehnung an andere Autoren[4-7] vorgeschlagenen Verfahren mitgeteilt. Die Fehler wurden insbesondere in zu geringen Jodausbeuten (nur 79%) und in Störungen der Jodbestimmung mittels Katalysereaktion (*Sandell* und *Kolthoff*[8]) im Destillat nach nicht richtig gelenkter Veraschung und Destillation festgestellt. Obwohl unsere Modifizierungsvorschläge die Mängel soweit als möglich beseitigen[2], bleiben doch die Kompliziertheit, große Zeiterfordernis und Anfälligkeit dieser Methode, die mit einem Korrekturfaktor behaftet zudem unökonomisch arbeitet. Wir waren daher um eine einfache, rationelle und zuverlässige Jodbestimmung im Blutserum bemüht.

Zur Methodik

Das Gesamtjod und das biologisch besonders interessierende eiweißgebundene Jod (Normalwert in 1 ml Serum: 0,036 bis 0,080 μg) kann

* Auszugsweise vorgetragen von *H. Spitzy* in Sektion I (Mikrochemische Methoden), XV. Kongreß der Internationalen Union für reine und angewandte Chemie (Analytische Chemie), 9. bis 16. September 1956, Lissabon.

nur nach Veraschung des großen Ballastes organischer Substanz (etwa 1 : 1000000) bestimmt werden. Aus der Differenz der Ergebnisse wird das anorganische Jod entweder errechnet oder rasch und einfach durch direkte Katalysereaktion im Trichloressigsäureüberstand des Serumeiweiß-Sedimentes ermittelt[2].

Folgende Gesichtspunkte waren bei Ausarbeitung der Bestimmungsmethode des Gesamt- und eiweißgebundenen Serumjods, die noch $10^{-3}\,\mu$g Jod zu erfassen hat, maßgebend:

1. Das zuverlässige Grundprinzip nach *Leipert*[9] — offene saure Veraschung des Serums bzw. dessen Eiweißpräzipitates in Gegenwart von Chromsäure als Oxydans, Reduktion der dabei gebildeten Jodsäure und darauffolgende Isolierung des Jods zu seiner Bestimmung — sollte beibehalten werden.

Ihm folgt der größte Teil der Jodanalytiker. Eine Autorengruppe[10–17] verwendet das *Fellenberg*sche Prinzip der offenen Veraschung mit Alkali, doch beobachten kritische Untersucher hierbei Jodverluste von 15 bis 20%[15,18] sowie unvollständige Veraschung, die sich durch kohlehaltige Rückstände anzeigt, wie wir sie mit der Methode von *Brown*[13] beobachteten. Die sehr unterschiedlichen Arbeitsvorschriften über Dauer und Temperatur der alkalischen Veraschung, deren genaue Einhaltung gefordert wird, erhärten ihre Problematik. Auch das starke Bindungsvermögen von Alkali für Jod stellt bei der offenen Veraschung über mehrere Stunden eine erhöhte Gefahr der Jodeinschleppung aus der Laboratoriumsumgebung dar.

Kürzlich kündigte *Rosenmund*[19] in einer Übersicht über Wert und Bestimmung des eiweißgebundenen Jods im Blutserum ein Zurückgreifen auf die klassische Veraschungsmethodik mit Sauerstoff im geschlossenen System an, die jedoch seinerzeit wegen des Übertretens von Substanzen, die die Jodbestimmung in der alkalischen Vorlage stören, wieder verlassen wurde. Eigene Versuche, die elegante Mikrohalogenbestimmung in definierten organischen Verbindungen nach *Schöniger*[20] auf die Serumjodbestimmung zu übertragen, scheiterten aus diesem Grunde.

2. Entgegen den zahlreichen bisherigen Destillationsverfahren sollte das Jod aus der Veraschungslösung — ohne experimentelle Schwierigkeiten und für Reihenuntersuchungen geeignet — praktisch vollständig freigelegt und in Alkali gebunden werden. Besonders angestrebt wurde die Einhaltung der Grundregel mikrochemischer Arbeitsmethodik: *kleine Substanzmengen — kleine Gefäße.* Die Heranziehung der „Isothermdiffusion" ermöglichte dies in idealer Weise.

3. Eine Vereinfachung der bisher üblichen zweifachen Veraschung in Schwefelsäure-Chromsäure mit Cer(IV)-sulfat als Katalysator war zu versuchen. Ihre Zuverlässigkeit (vollständiger und jodverlustfreier Aufschluß des Serums bzw. seines Eiweißniederschlages) war sicherzustellen.

4. Die absolut störungsfreie photometrische Auswertung des zeit- und temperaturabhängigen katalytischen Einflusses des isolierten Jods auf die Entfärbung des Cer(IV)-sulfats durch arsenige Säure mußte gewährleistet sein.

5. Mit ^{131}Jod sollten alle Stufen der Jodbestimmung in ihrer Richtigkeit und Zuverlässigkeit geprüft werden.

6. Alle Handhabungen und apparativen Erfordernisse sollten möglichst einfach gestaltet und klar beschrieben werden, um einer bislang noch fehlenden Routinemethode näher zu kommen.

A. Die Isolierung des Jods aus Veraschungslösungen durch Isothermdiffusion

Einige Verfahren bestimmen den Jodgehalt direkt im Rückstand nach alkalischem[10–17] oder saurem Aufschluß[21–24] des Serums. Die Vielzahl darin befindlicher Fremdionen in variierender Menge beeinflußt nach unseren

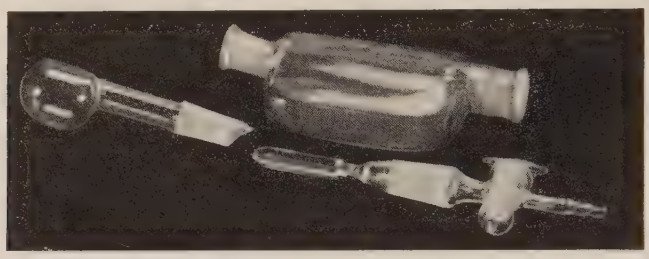


Abb. 1. Einzelteile der Apparatur zur Bestimmung des Gesamt- und eiweißgebundenen Jods

Ergebnissen die Jodkatalysereaktion erheblich. Daher sind ständige Kontrollen mit bekannten Jodzusätzen, die auch für Destillationsverfahren vorgeschlagen wurden[25], erforderlich.

Die bisher allgemein geübte Destillation bedingt durch die übergehende Wassermenge eine Apparatgröße, die zu der zu isolierenden Jodmenge in keinem Verhältnis steht. Nur strengstes Einhalten der gleichen Heiz- und Destillationsintensität ergibt konstante Jodausbeuten (bis zu 90%) in stark verdünnten Destillaten[2,26], soll die ständige Kontrolle mit ^{131}Jod nach *Nesh* und *Peacock*[27] vermieden werden. Eine Ursache für das häufige Fehlschlagen einer Jodbestimmung nach Destillation, die verschiedentlich durch Trägergas bzw. Halbvakuum in ihrer Wirksamkeit gesteigert wird, bildet das Mitreißen von Chromverbindungen und anderen noch unbekannten Substanzen in die alkalische Vorlage, wo sie die Jodbestimmung mittels Katalysereaktion störend beeinflussen*. Dies war mitbestimmend für die Wahl der Isothermdiffusion zur schonenden Freilegung des Jods aus der Veraschungslösung.

Vorversuche mit diesem Prinzip — erstmals schon 1851 von *Schlösing*[28] und später besonders von *Conway*[29] sowie *Tompkins* und *Kirk*[30] mit zweckmäßigeren Apparaturen analytisch angewandt — ergaben die grundsätzliche Möglichkeit, Jod aus Veraschungslösungen nach Reduktion der Jodsäure in alkalische Vorlagen ohne großen Stofftransport zu isolieren.

---

* Diese Beobachtung wurde in einer wertvollen Diskussion mit Herrn Dr. *A. L. Chaney*, California, erhärtet.

Bei der Jodbestimmung durch Katalysereaktion ist noch 1 ng Jod/6 ml erfaßbar; damit ist die Ausgangsmenge an Serum mit 0,5 ml vorgegeben. Diese erfordert bestimmte Reagenzienmengen für die vollständige Veraschung, für die Oxydation des freigelegten Jods zu nichtflüchtiger Jodsäure (6 ml 83%ige Schwefelsäure und 0,6 ml 60%ige Chromsäure) und für deren Reduktion (1 ml 60%ige phosphorige Säure). Das End-

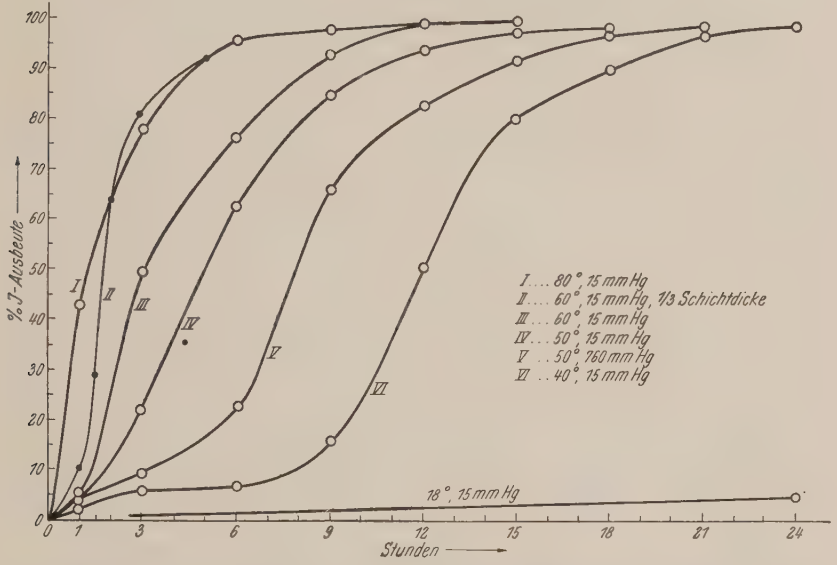


Abb. 2. Jodausbeuten in Abhängigkeit von Zeit, Temperatur, Druck und Schichtdicke der Veraschungslösung. Ausgangsmenge 500 μg J als NaJ, Isothermdiffusion mit gleichartigen Entwicklungsmodellen der Apparatur

volumen von 7 ml nach der Veraschung und Reduktion bestimmte Größe und Form der zu entwickelnden Apparatur* (Abb. 1), erwies sich doch die Isolierung von Jod durch Isothermdiffusion aus der Veraschungslösung vor allem abhängig von deren Schichtdicke, von Zeit, Temperatur und Druck.

Die Apparatur besteht aus einem retortenförmigen Veraschungskölbchen, einem Mittelkörper mit flachem Boden zur Aufnahme der reduzierten Veraschungslösung sowie einem Löffel für die alkalische Vorlage, dessen Ende zum Evakuieren der Gesamtapparatur eingerichtet ist. Die Vakuumsicherung erfolgt zweifach durch Drehverschluß und Vakuumhahn, um einen toten Raum auszuschließen.

An Entwicklungsmodellen wurden zunächst mit Hilfe von ^{131}Jod folgende Fragen studiert:

* Die Apparatur samt Zubehör ist bei P. Haack, Wien IX, Garnisongasse 3, zu beziehen.

1. Als günstigste Laugemenge und -konzentration der Vorlage erwiesen sich 150 μl 10%ige Natronlauge bei gleichmäßiger Verteilung im gläsernen Vorlagelöffel. Verwendung von Natriumarsenitlösung erbrachte keine ersichtlichen Vorteile, hingegen war das Herauslösen aus dem Glaslöffel in das Meßkölbchen für die Jodkatalysereaktion erschwert.

2. In Vergleichsversuchen zeigte sich die längliche, flache Form des Vorlagelöffels gegenüber der runden für die Jodbindung in Alkali überlegen.

3. Der Raum der Veraschungskölbchen hat nach Parallelversuchen auf die Jodausbeuten keinen Einfluß.

4. Die prinzipielle Abhängigkeit der Jodausbeuten bei Isothermdiffusion von Zeit, Druck, Temperatur und Schichtdicke der Veraschungslösung zeigt die Abb. 2.

Arbeitsweise: 10 ml wäßrige, mit ^{131}Jod markierte Natriumjodidlösung (1 mg J/ml) wurde mit 120 ml 83%iger Schwefelsäure und 12 ml 60%iger Chromsäure nach B verlustfrei verascht. Nach Abkühlen wurde auf 120 ml aufgefüllt und je 6 ml dieser Lösung, 500 μg Jod entsprechend, in Veraschungskölbchen unter Eiskühlung 1 ml 60%ige phosphorige Säure zugesetzt und nach den in Abb. 2 angegebenen Bedingungen der Diffusion überlassen. Nach Beendigung wurde die Vorlage mit heißem bidestilliertem Wasser herausgespült und nach Abkühlen auf 10 ml aufgefüllt. Hiervon wurden 2 ml zur Strahlungsmessung (Szintillationszählrohr Philips PW 4111/00 mit elektronischem Zählgerät PW 4035 zur γ-Strahlenmessung bei gleichartiger Zählanordnung) verwendet, die verbleibenden 8 ml nach Bromoxydation zur titrimetrischen Ausbeutebestimmung (0,05-n Thiosulfat) mit guter Übereinstimmung benützt.

Steigende Temperatur setzt die Mindestzeit für praktisch 100%ige Ausbeute erheblich herab. Auch verminderter Druck hat einen deutlichen Einfluß (Kurven für 50°, 15 mm Hg und 50°, 760 mm Hg). Da man nach 24 Stunden bei 18° und 15 mm Hg erst 5% Jodausbeute erhält, kann die phosphorige Säure in der noch nicht zusammengesetzten Apparatur unter Eiskühlung ohne Jodverlust zur Reduktion zugesetzt werden, s. auch B 1. Die Verminderung der Schichtdicke der Veraschungslösung auf ein Drittel ist etwa einer Temperatursteigerung um 20° gleichzusetzen (60° und 15 mm Hg bei $^1/_3$ Schichtdicke entsprechen im oberen Teil etwa 80° und 15 mm Hg bei voller Schichtdicke). Bei 80° wird der Vorlagelöffel aus Jenaer Geräteglas 20 von der Lauge sichtlich angegriffen, weshalb 50° ohne diese Erscheinung auch bei Dauergebrauch über 1 Jahr eingehalten wurden.

Der eigenartige, flache Kurvenanstieg in Abb. 2 bei niedrigen Temperaturen ist nach Versuchen auf die noch nicht vollständige Reduktion der Jodsäure mit phosphoriger Säure zurückzuführen. Die Geschwindigkeit dieser Reduktionsreaktion ist weit kleiner als jener der überschüssigen Chromsäure mit phosphoriger Säure. Setzt man das Veraschungskölbchen bei geschlossener und evakuierter Apparatur für 5 Minuten in kochendes Wasser ein, so verschwindet der anfängliche flache Kurventeil und die Maxima an Jodausbeuten sind zeitlich vorverschoben.

Die endgültige Apparatur (Abb. 1) wurde nach diesen und anderen Ergebnissen so gestaltet, daß in ihr alle Operationen ohne Überführung der Probe durchführbar sind. Bei Bestimmung des eiweißgebundenen Jods werden Fällung mit Trichloressigsäure, Zentrifugieren, Waschen, Veraschen und Reduktion im Veraschungskölbchen vorgenommen. Nach Zusammenbau der Apparatur und Evakuieren mit der Wasserstrahlpumpe

auf 15 mm Hg wird die Veraschungslösung durch Drehen des Veraschungskölbchens bequem auf den Boden des Mittelkörpers zum Ausfließen

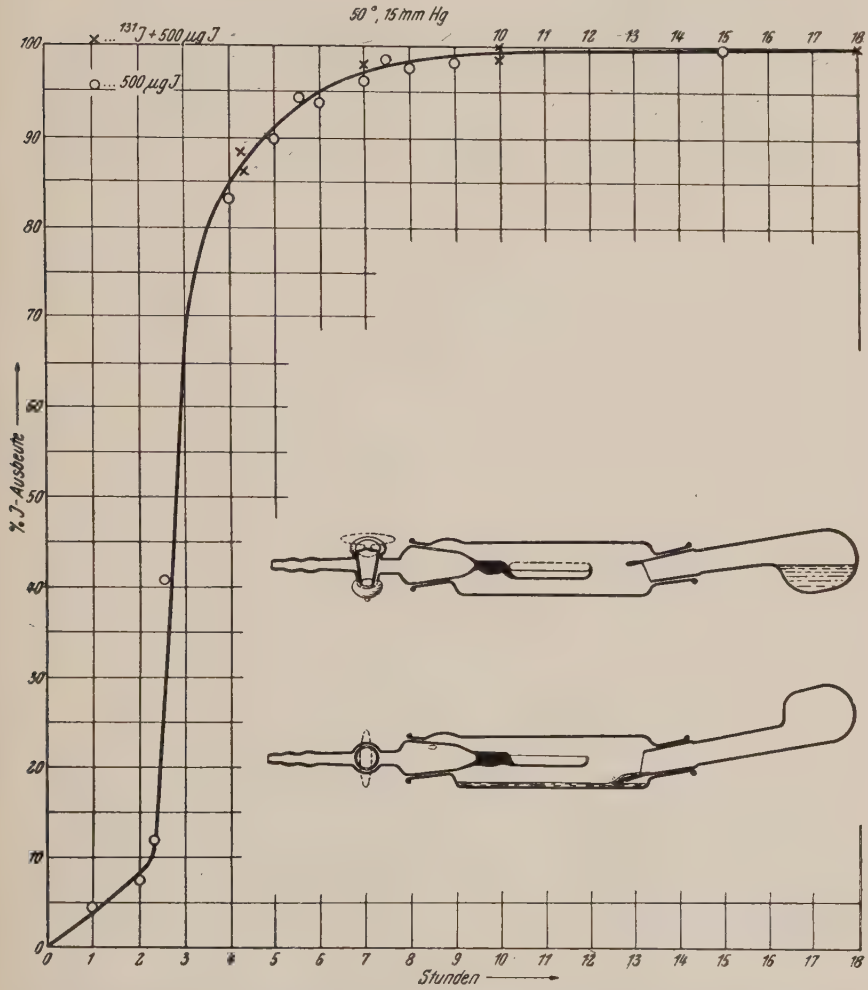


Abb. 3. Jodausbeuten in Abhängigkeit der Diffusionsdauer. Je 500 µg J als NaJ (teilweise markiert mit ^{131}Jod) nach B verascht und reduziert. Isothermdiffusion bei 50° und 15 mm Hg in 150 µl 10%ige Natronlauge-Vorlage. Schnitt durch die Apparatur vor dem Evakuieren (oben) und im evakuierten Zustand zur Diffusion bereit (unten)

gebracht (Abb. 3, unten) und zur Diffusion des Jods in die Natronlauge am besten über Nacht stehen gelassen. Die Vergrößerung der Grundfläche des Mittelkörpers — dadurch Verringerung der Schichtdicke der Veraschungslösung auf 1,35 mm — und Verkleinerung des Volumens

gegenüber den Entwicklungsmodellen setzten die Diffusionsdauer für praktisch 100%ige Jodausbeute bei vorgelegten 500 μg Jod auf etwa 11 Stunden herab (Abb. 3).

Diese Ausbeute erhält man jedoch wider Erwarten nur bei vor der Veraschung nach B zugesetztem Jod als NaJ von 500 bis zu 30 μg herab. Verringert man die Ausgangsmenge an Jod extrem weiter bis zum praktisch trägerfreien ^{131}Jod (hier ist als chemisch meßbare Menge lediglich der Jodgehalt der besonders gereinigten Reagenzien mit etwa 0,01 μg

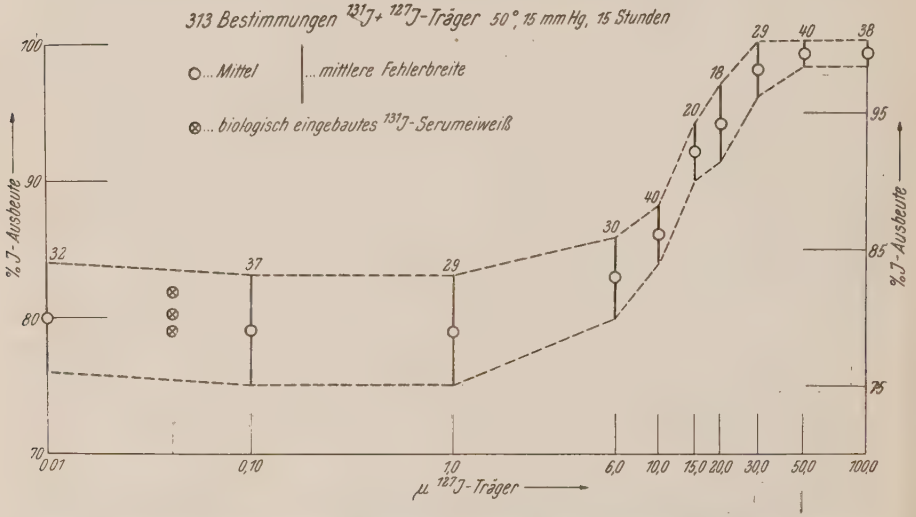


Abb. 4. Einfluß der Ausgangsmenge an Jod auf die Ausbeute. Isothermdiffusion bei 50° und 15 mm Hg durch 15 Stunden in 150 μl 10%ige Natronlauge-Vorlage

anzusehen), so resultieren nur 80 $\pm$ 4% Ausbeute. Abb. 4 zeigt den Einfluß der vor der Veraschung nach B zugefügten Jodmenge auf die Ausbeute, die 150 μl 10%ige Natronlauge waren wie bisher im gläsernen Vorlagelöffel gleichmäßig verteilt. Die Bestimmungen wurden mit Ausnahme der Menge des vorgegebenen Jods in apparativer und methodischer Hinsicht völlig gleichartig durchgeführt. Mittelwerte, mittlere Fehlerbreiten sowie die Anzahl der jeweils vorgenommenen Bestimmungen sind angegeben. 313 Bestimmungen wurden durchgeführt, um den eigenartigen Kurvenverlauf zu sichern. Man erhält von 0,01 bis 1,00 μg vorgelegtem Jod etwa 80% der vorgegebenen Menge, dann steigen die Ausbeuten mit zunehmender Jodvorgabe in einem relativ knappen Bereich an und erreichen bereits bei 30 μg praktisch 100%. Zur Kontrolle wurde auch biologisch in Serumeiweiß eingebautes ^{131}Jod (B 3) verascht, reduziert und in die Versuchsreihe einbezogen. Die Jodausbeuten liegen auch hier entsprechend dem absoluten Jodgehalt bei 80%.

Es interessierte nun der Verbleib des jeweils auf 100% fehlenden Jods. Bei seinerzeitigen Untersuchungen der Destillationsapparatur nach *Klein*[3] konnten wir mit ^{131}Jod[2] ein Festhaften von Jod an Glas beobachten. Die Überprüfung dieser Frage bei unserer Apparatur, bei der das Verhältnis von Jodmenge zu Glasoberfläche weit günstiger ist, ergab keine Jodverluste durch Adsorption an der Glasoberfläche.

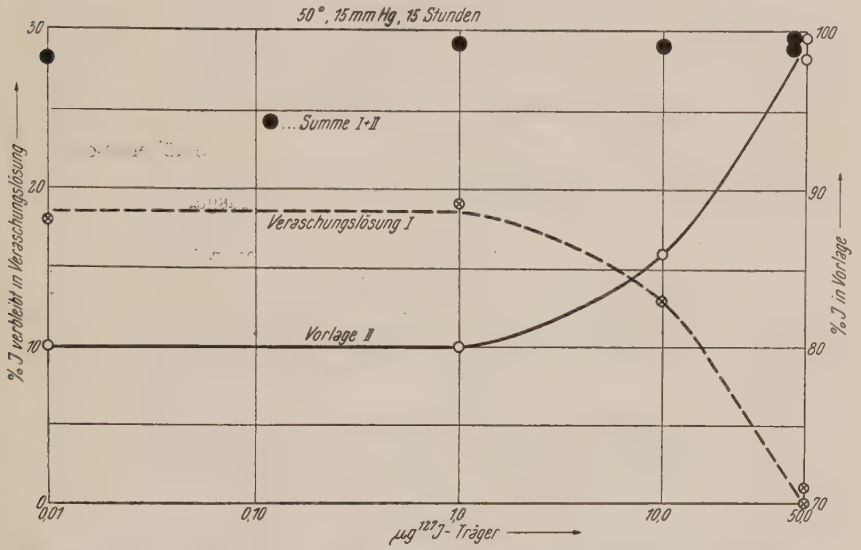


Abb. 5. Verbleib des nicht in die alkalische Vorlage (150 µl 10%ige Natronlauge) diffundierten Jods in Abhängigkeit von der Jod-Ausgangsmenge

Das nicht in der Alkalivorlage gebundene Jod findet sich bei Variation der Jodvorgabe nach 15 Stunden bei Isothermdiffusion (50° und 15 mm Hg) jeweils in der Veraschungslösung (Abb. 5). Dabei entspricht die Summe der Jodanteile in Vorlage und Veraschungslösung praktisch der vor den Versuchen zugesetzten Jodmenge, gemessen an ihrer Strahlungsintensität. Kontrollen des nach der Diffusion im Gasraum befindlichen Jodanteiles durch Absaugen in Alkalivorlagen unter höherem Vakuum ergaben keine meßbare Strahlung.

Um auch bei Vorlage von weniger als 1 µg Jod (0,01 bis 1,00 µg entsprechend 2 bis 200 µg% Serumjod) an 100% Ausbeute heranzukommen und damit einen Korrekturfaktor zu vermeiden, boten sich bei der nach den bisherigen Ergebnissen zweckmäßigsten Apparatur folgende Möglichkeiten zum Studium an:

a) Variation der Reagenzienkonzentrationen (Schwefelsäure, Chromsäure, phosphorige Säure);

b) Verlängerung der Diffusionsdauer;
c) Verminderung des Druckes;
d) Erhöhung der Temperatur;
e) Abänderung der Alkalivorlage zur besseren Bindung des Jods.

Sofern bei so geringen Jodkonzentrationen nicht ein unaustreibbarer Jodanteil in der Veraschungslösung verbleibt, wogegen schon das in Abb. 4 dargestellte Untersuchungsergebnis der gleichen prozentualen Ausbeuten von konstant 80% bei Variation der Jodvorgabe von 0,01 bis 1,00 μg unter sonst völlig gleichartigen Bedingungen spricht, mußte es auf diese Weise gelingen, praktisch totale Jodausbeuten zu erhalten.

Zu a). In Übereinstimmung mit *Chaney*[31] fanden wir, daß höhere Schwefelsäurekonzentrationen das Übertreiben von Jod erleichtern. Wir wählten daher die im Vergleich zu anderen Methoden höhere Ausgangskonzentration von 83 Gew.-%.

Die Variation der Chromsäure als Oxydans in Konzentration und Absolutmenge hatte keinen Einfluß; letztere ist durch die Veraschung von 0,5 ml Serum vorgegeben. Auch Konzentration und Menge der phosphorigen Säure erwiesen sich als optimal. Sie genügen zur Reduktion sowohl der Gesamtmenge an Chromsäure bei Blindwertbestimmungen als auch der Jodsäure, die in Modellversuchen bei Jodvorgaben bis zu 1 mg J als NaJ gebildet wurde.

Zu b). Die Verlängerung der Diffusionsdauer bis zu 3 Tagen erhöhte die Jodausbeute bei Vorgabe von 0,01 bis 1,00 μg nur wenig. Mit Rücksicht auf den günstigsten Zeitaufwand (Isothermdiffusion über Nacht) wurde diese Möglichkeit nicht weiter verfolgt.

Zu c). Der Einfluß erhöhten Vakuums wurde gleichfalls wegen der damit verursachten Komplikation der Methode nur orientierend untersucht. Mit Hilfe einer Gasballastpumpe erzeugtes Vakuum von $5 \cdot 10^{-2}$ Torr beeinflußte die Jodausbeute kaum.

Zu d). Bei Temperaturerhöhung war ein Angriff des gläsernen Vorlagelöffels durch die Natronlauge zu erwarten. Trotzdem wurden Versuche mit ^{131}Jod über 15 Stunden bei 120° und 15 mm Hg durchgeführt. Man erhielt zwar bei 0,01 μg Jodvorgabe nahezu 100% Ausbeute, doch verursachten die durch den deutlichen Glasangriff eingeschleppten Fremdionen eine Störung der katalytischen Jodreaktion. Deshalb aus dem weitgehend chemikalien- und temperaturresistenten Kunststoff Teflon gefertigte Vorlagelöffel hatten den Nachteil, die 150 μl 10%ige Natronlauge so stark abzuweisen, daß diese Kugelgestalt annahm und im Vakuum verspritzte. Bei vor dem Evakuieren in der Teflonvorlage eingetrockneter Natronlauge erhielten wir gleichfalls an die 100% Jodausbeute. Vorgelegt waren wieder 0,01 μg J mit ^{131}Jod markiert. Die katalytische Jodreaktion verlief störungsfrei.

Trotzdem verließen wir die erhöhte Temperatur von 120°, da sie das Kriechen des für die Vakuumfestigkeit erforderlichen Silicons in die gesamte Apparatur erheblich fördert. Deren Siliconierung steht jedoch der Zuverlässigkeit der maximalen Ausbeute bei minimalen Jodmengen (0,01 μg) entgegen. Bemühungen um eine andere Schliffdichtung schlugen leider bisher fehl. Sowohl Dichtungsfette, die von vornherein wegen einer Jodbindung fragwürdig waren, als auch sirupöse Phosphorsäure bewährten sich nicht. Die jüngst für solche Zwecke empfohlenen und im Handel erhältlichen Teflon-

folien als Schliffüberzüge von 0,003'' Dicke* waren weder über 14 Stunden vakuumdicht, noch hielten sie bei Dauergebrauch der mechanischen Beanspruchung stand. Auch der seit kurzem beziehbare Akorod-Komponenten-Überzug auf Teflonbasis, der in bis zu sieben Schichten auf Glas fest aufgebracht werden kann**, hat bisher in dieser Hinsicht noch nicht befriedigt***.

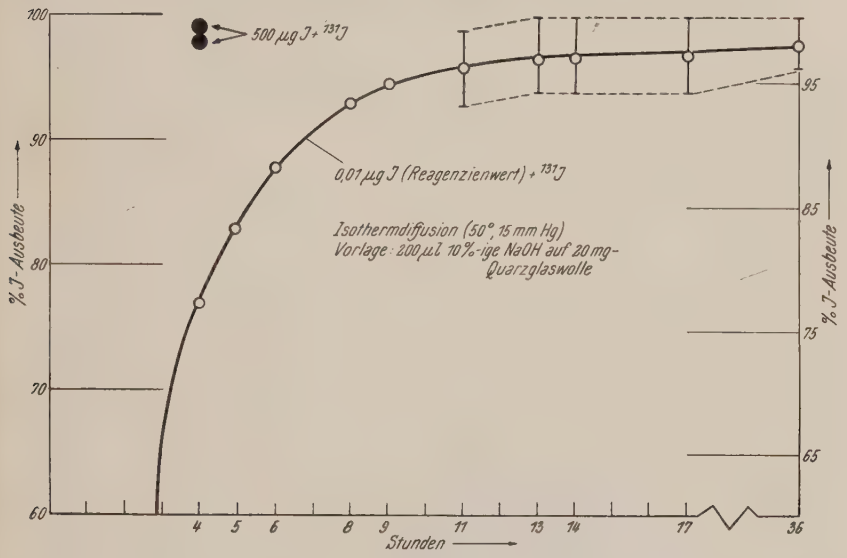


Abb. 6. Jodausbeute in Abhängigkeit von der Diffusionsdauer; Bedingungen nach der Arbeitsvorschrift

Dennoch glauben wir, daß eine Schliffdichtung auf ähnlicher Grundlage aussichtsreich ist und die in der Arbeitsvorschrift zur Reinigung der Apparatur angegebenen Maßnahmen auf ein Minimum herabsetzen wird.

Zu e). Zur feineren Verteilung der Natronlauge auf vergrößerter Oberfläche wurde in Erwartung einer besseren Jodbindung eine Einlage von etwa 20 mg Quarzglaswolle (Heraeus, Hanau) in den gläsernen Löffel selbst bei 50° und 15 mm Hg mit Erfolg gewählt. Die gleichmäßig eingelegte Quarzglaswolle ist hierbei mit 200 µl 10%iger Natronlauge durchgehend befeuchtet.

* Arthur F. Smith Company, Rochester 4, New York, P. O. Box 701; s. Analyt. Chemistry **29**, 84 A (1957).

** Süddeutsche Asbest- und Packungsfabrik W. E. Huth, Percha bei Starnberg a. See.

*** Während der Drucklegung dieser Mitteilung erwies sich eine Suspension von *Bentonit* in Phosphorsäure (d = 1,70) als ausgezeichnetes Dichtungsmittel. Durch seine Verwendung an Stelle der Siliconpaste P-Wacker entfällt die in der Arbeitsvorschrift angegebene langwierige Reinigung der Apparate in den verschiedenen Bädern. Es genügt nach jeder Bestimmung ein gründliches Spülen mit Leitungswasser und bidestilliertem Wasser. Nach Trocknen sind die Apparate wieder einsatzbereit. Kontrollversuche ließen kein Jodbinduugsvermögen des Dichtungsmittels erkennen. Die Katalysereaktion verläuft störungsfrei.

Es interessierte vorerst, ob durch das Trocknungsvermögen der stark schwefelsauren Veraschungslösung während der 14 Stunden Isothermdiffusion bei 50° und 15 mm Hg die Bindungskraft der Alkalivorlage für Jod abnimmt. Hierzu wurden 0,01 μg Jod nach B verascht, reduziert und 14 Stunden der Diffusion überlassen. Dann wechselte man rasch nach Entleeren des Mittelkörpers das Kölbchen gegen ein anderes, in dem 100 μg Jod mit ^{131}Jod markiert nach B verascht waren und dessen Inhalt unmittelbar vor dem Einbau in die Apparatur unter Eiskühlung reduziert wurde. Die Diffusion erfolgte nun in dieselbe Natronlaugevorlage wie vorhin mit 100%iger Ausbeute. Eine Abnahme des Bindungsvermögens der Alkalivorlage trat also selbst nach 28 Stunden nicht ein.

In Abb. 6 sind die Jodausbeuten bei Isothermdiffusion (50° und 15 mm Hg) und 0,01 μg Jodvorgabe in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Als Vorlage wurden 200 μl 10%ige Natronlauge auf etwa 20 mg Quarzglaswolle aufgebracht. 14 Stunden Diffusionsdauer genügen für 97 $\pm$ 3% Jodausbeute. Daß die feine Verteilung der Natronlauge auf vergrößerter Oberfläche einen entscheidenden Einfluß auf die Jodausbeute besitzt, zeigt auch ein Vergleich gegenüber 4 Stunden Diffusionsdauer bei 500 μg vorgegebenem Jod unter sonst gleichen Bedingungen: *ohne* Quarzglaswolle wurden auch bei 200 μl 10%iger Natronlaugevorlage 85% erhalten (Abb. 3), *mit* Quarzglaswolle 99% (Abb. 6). Gleichzeitig ist abermals das schon früher wider Erwarten aufgefundene Ergebnis (s. Abb. 4) bestätigt, daß größere Mengen Jod in besserer Ausbeute isolierbar sind als Bruchteile eines Mikrogramms. Das Auswaschen der jodhältigen Lauge aus der Quarzglaswolle erfolgt mit heißem, bidestilliertem Wasser auf 5 ml quantitativ (s. Arbeitsvorschrift); es empfiehlt sich, die Einlage zu wechseln, wenn diese ihre ursprüngliche feine Verteilung verliert. Die katalytische Jodreaktion verläuft auch bei Verwendung der Quarzglaswolle störungsfrei.

Bei 50° lassen sich aber nicht nur Jodmengen, wie sie bei Serumbestimmungen anfallen, in praktisch 100%iger Ausbeute wiederfinden, sondern auch das unter d) angeführte Kriechen des Silicons weitgehend verhindern. Hierbei wirken an den Schliffen der Veraschungskölbchen und Vorlagelöffel angebrachte Fettrillen unterstützend.

So hohe Jodausbeuten konnten bislang bei Destillationsmethoden mit maximal 90% noch nicht erzielt werden. Ein Korrekturfaktor erübrigt sich. Als weiterer Vorteil kann gelten, daß nun das gesamte, aus 0,5 ml Serum isolierte Jod in einem kleinen Volumen störungsfrei der Katalysereaktion zugeführt wird, während bisher umfangreiche Destillate anfielen, die nur zu ihrem vierten oder fünften Teil der Jodbestimmung dienten.

B. Versuche zur vereinfachten Schwefelsäure-Chromsäure-Veraschung und ihre Kontrolle mit ^{131}Jod

Schon früher fanden wir[2], daß ein nicht richtig gelenkter Schwefelsäure-Chromsäure-Aufschluß wohl sicher keine Jodverluste verursacht, wie

mehrfach bei besonders stark wasserhaltigen Materialien angeführt wird (*Klein*[32], dort auch weitere Lit.), aber Störungen der Katalysereaktion des isolierten Jods bewirken kann. Bisher wurde Serum zweimal mit Schwefelsäure-Chromsäure unter Zusatz von Cer(IV)-sulfat als Katalysator in verschiedener, auch widersprechender[3,33] Weise verascht. Um klare Aufschlußvorschriften hinsichtlich Zeit und Temperatur geben zu können, wurden folgende Untersuchungen durchgeführt.

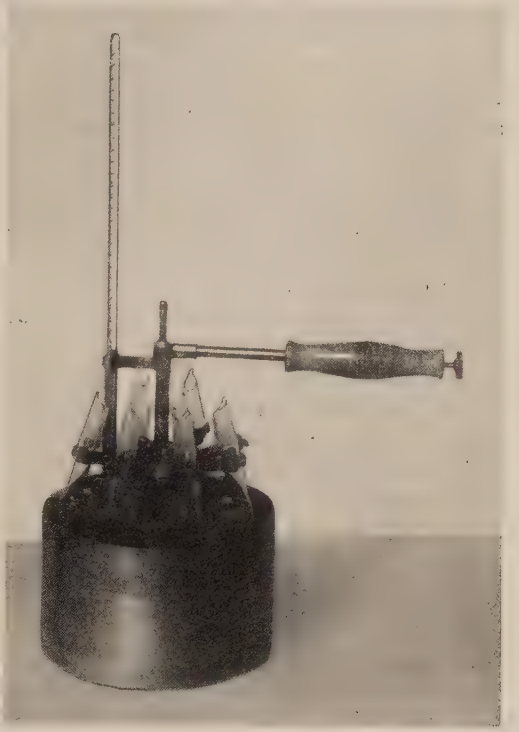


Abb. 7. Heizbad mit Siliconöl zur gleichzeitigen Veraschung von 12 Proben

1. Verlustfreie Veraschung wäßriger Jodidlösungen.

In Veraschungskölbchen wurden gemessene Mengen ^{131}Jod (Reagenzienwert: 0,01 μg ^{127}Jod) mit 6 ml 83%iger Schwefelsäure und 0,6 ml 60%iger Chromsäure versetzt. γ-Strahlenmessung mit Szintillationszähler. Nach einmaliger Veraschung unter extremen Bedingungen bis zu 250° wurde der Wasserverlust durch Wägung festgestellt, ersetzt und die Strahlungsintensität gegen entsprechende Vergleichsproben wieder gemessen. Es war kein Jodverlust festzustellen. Kontrollen, wobei nach der Veraschung inaktiver Proben dieselbe Menge an ^{131}Jodat zugesetzt wurde, bestätigten gleichfalls die jodverlustfreie Veraschung.

Die in der Arbeitsvorschrift beschriebene Reduktion mit phosphoriger Säure, die zur sicheren Vermeidung von Jodverlusten unter Eiskühlung vorgenommen wird, wurde ebenfalls mit ^{131}Jod geprüft. Auf Zimmertemperatur abgekühlte Veraschungslösungen erwärmen sich bei Zusatz des Reduktionsmittels bis auf etwa 50°. Nach 10 Minuten Stehen ergab sich hierbei ein Jodverlust von nur 2%. Die Reduktion unter Eiskühlung ist selbst bei Stehen über 6 Stunden absolut jodverlustfrei. Auch beim Evakuieren der Apparatur nach Einbau dieser Veraschungskölbchen ging unter der Wasserstrahlpumpe bis zu 30 Minuten Absaugdauer kein Jod verloren.

2. Störungsfreiheit der Katalysereaktion des isolierten Jods nach vereinfachter Veraschung von Serum

Bei anfänglicher Veraschung über Mikrobrennern waren konstante Bedingungen schwer einzuhalten. Deshalb wurde zum Flüssigkeitsbad übergegangen. Abb. 7 zeigt die Veraschungseinrichtung für 12 Kölbchen; Heizung: Kochplatte; Heizflüssigkeit: Siliconöl Wacker AR 200 St.

Bei 130° Badtemperatur beginnt die Veraschung; dann steigert man die Temperatur gleichmäßig innerhalb 40 Minuten auf 210°. Bis 190° bleiben die Kölbchen bis zur Höhe ihres Inhaltes, für den Rest der Veraschung bis zu ihrem Schliffansatz in das Flüssigkeitsbad getaucht (Senken des Einsatzes), um Kondensate aus dem Kolbenhals zu vertreiben. Die Notwendigkeit dieser Maßnahme zur Vermeidung von Störungen der Katalysereaktion bewiesen Versuche jeweils mit demselben Serum:

a) Die Kölbchen blieben während der gesamten Veraschung bis zur Höhe ihres Inhaltes eingetaucht.

b) Die Kölbchen wurden ab 190° bis zum Schliffansatz in das Heizbad gesenkt.

Erkennung und Prüfung der Störung: Nach Diffusion (je sechs Apparate) wurden die Vorlagen auf 10 ml aufgefüllt, davon in je 4 ml ohne und in je 4 ml mit Zusatz von 0,02 μg Jod als NaJ der Jodgehalt katalytisch bestimmt (Tabelle 1).

Tabelle 1. Störungsfreiheit der Katalysereaktion des isolierten Jods nach vereinfachter Veraschung von Serum

a) Apparat Nr.	1	2	3	4	5	6
Serum ohne Jodidzusatz, μg J ..	0,015	0,013	0,017	0,018	0,014	0,015
0,02 μg J zugesetzt	0,029	0,025	0,031	0,035	0,026	0,030
Wiedergefunden, μg J	0,014	0,012	0,014	0,017	0,012	0,015
% Hemmung.....	30	40	30	15	40	25
b) Apparat Nr.	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**12**
Serum ohne Jodidzusatz, μg J ..	0,022	0,023	0,022	0,021	0,022	0,022
0,02 μg J zugesetzt	0,041	0,043	0,042	0,042	0,042	0,043
Wiedergefunden, μg J	0,019	0,020	0,020	0,021	0,020	0,021

Anmerkung: Genauigkeit der Jodbestimmung durch Katalysereaktion $\pm$ 0,001 μg, Durchführung siehe Arbeitsvorschrift. Wir verwerten die katalytische Jodwirkung auf das System Cer(IV)-sulfat—arsenige Säure bei 40° derart, daß die Lichtdurchlässigkeit exakt 15 Minuten nach dem Zusatz der Cer(IV)-lösung bei 430 nm gemessen wird. Dabei verzichten wir bewußt auf die Messung im Absorptionsmaximum der Cer(IV)-sulfatlösung bei 317 nm, da diese ein Spektralphotometer erfordert[16].

Verschiedene Autoren versuchen die Katalysereaktion durch Inhibitoren wie vor allem Brucinsulfat (*Fischl*[34], dort weitere Lit.) zu bestimmten Zeitpunkten zu stoppen, um die photometrische Bestimmung weitgehend zeitunabhängig durchführen zu können. Diese Möglichkeit wurde von uns nicht näher untersucht, da die Blockierung gleichfalls in strenger Zeitabhängigkeit erfolgen muß und die von uns gewählte einfache Bestimmungsform sehr zufriedenstellende Resultate liefert.

3. Vollständige und verlustfreie Veraschung von Serumeiweiß

Zur Kontrolle der totalen Veraschung genügt es nicht, dem biologischen Material vor dem Schwefelsäure-Chromsäure-Aufschluß ^{131}Jod zuzusetzen, um aus der Tatsache, daß es nach Isolierung quantitativ wiedergefunden wird, positive Schlüsse zu ziehen. Nur Versuche mit biologisch ins Eiweiß eingebautem Radiojod erscheinen beweiskräftig.

Über 5 Tage jodarm ernährte Ratten erhielten s. c. je 200 μC ^{131}Jod trägerfrei. Nach 48 Stunden erfolgte Herzpunktion zur Serumgewinnung. Zu dieser Zeit entspricht der Anteil ^{131}Jod in seiner Verteilung als eiweißgebundenes und anorganisches Jod dem natürlichen Verhältnis, etwa 4 : 1. Je 0,5 ml der Seren wurden serienmäßig in Veraschungskölbchen mit Trichloressigsäure gefällt, gewaschen und nach verschiedenen Bedingungen verascht:

a) *Einmalige schnelle Veraschung (14 Minuten)* ohne Cer(IV)-sulfat, mit Cer(IV)-sulfat, Zusatz von 2 ml aqua bidest. vor der Veraschung, 2 ml aqua bidest. und Cer(IV)-sulfat.

b) *Einmalige langsame Veraschung (40 Minuten)* mit gleicher Variation wie a).

Von 130 bis 190° blieben die Kölbchen bei a) und b) bis zur Höhe ihres Inhaltes, bis 210° bis zum Schliffansatz in das Heizbad gesenkt.

Die Strahlungsintensität wurde nach Veraschung und Reduktion sowie nach erfolgter Diffusion in gleicher Anordnung gemessen. Die Reststrahlung in der Veraschungslösung sowie die verminderten Ausbeuten in der Vorlage gegenüber Abb. 6 ergaben das Ausmaß des Aufschlusses.

Nach den Ergebnissen besitzt Cer(IV)-sulfat, dessen Zusatz in der Literatur bei naß-sauren Veraschungsverfahren allgemein vorgeschrieben wird, auf die Vollständigkeit der Veraschung von Serumeiweiß keinen positiven Einfluß. Als günstigste Bedingungen wurden 40 Minuten Veraschung in einem Gang und ein anfänglicher Zusatz von 2 ml aqua bidest. ermittelt.

Da die im Serum zu bestimmenden normalen Jodgehalte sehr gering sind (in 0,5 ml Serum 0,020 bis 0,050 μg Gesamtjod entsprechend 4,0 bis 10,0 μg%; davon eiweißgebunden: 0,018 bis 0,040 μg entsprechend 3,6 bis 8,0 μg%) und viele Faktoren die Resultate beeinflussen können, erscheint eine ausführliche Arbeitsvorschrift notwendig.

Arbeitsvorschrift

Reagenzien

Die *Entfernung von Jodspuren* aus den Reagenzien ist für die Methode unerläßlich (niederer Blindwert!), weshalb die unten angegebene Reinigung zu beachten ist.

1. *Bidestilliertes Wasser:* Destilliertes Wasser wird in einer Glasapparatur über Kaliumcarbonat destilliert.

2. *83%ige Schwefelsäure:* 270 ml bidest. Wasser + 730 ml Schwefelsäure Merck für forensische Zwecke ($d = 1{,}84$) werden mehrere Stunden gekocht (auf laufenden Ersatz des Wasserverlustes achten!) und mit bidest. Wasser auf die ursprüngliche Konzentration gebracht. Es ist zweckmäßig, jeweils Packungen aus einer Charge zu verwenden.

3. *60%ige Chromsäure:* 600 g Chromsäure Merck p. a. zu 1000 ml mit bidest. Wasser lösen und zwecks Reinigung ebenso wie die Schwefelsäure behandeln.

4. *Siedesteinchen* aus Schamotte werden auf einen Millimeter zerkleinert, gesiebt, mit Natronlauge gekocht, mit Wasser gespült, sodann mit Schwefelchromsäure abermals gekocht und schließlich mit Leitungswasser und bidest. Wasser gründlich gespült.

5. *60%ige phosphorige Säure:* 600 g phosphorige Säure, kristallisiert, Riedel de Haën, zu 1000 ml mit bidest. Wasser lösen und zwecks Reinigung ebenso wie die Schwefelsäure behandeln.

6. *10%ige wäßrige Natronlauge:* Natriumhydroxyd Merck p. a. in bidest. Wasser lösen. Wenn erforderlich, wird das Natriumhydroxyd nach *Fellenberg* in gesättigter, wäßriger Lösung mehrmals mit Äthanol ausgeschüttelt und getrocknet.

7. *Arsenige Säure, 0,15-n:* 3,71 g As_2O_3 Merck p. a. resubl. in 50 ml n-Kalilauge lösen und mit 200 ml bidest. Wasser verdünnen. Diese Lösung wird mit 83%iger Schwefelsäure neutralisiert und mit weiteren 54 ml 83%iger Schwefelsäure sowie 3,125 g Natriumchlorid Merck p. a. versetzt. Schließlich wird mit bidest. Wasser auf 500 ml aufgefüllt.

8. *Cer(IV)-sulfat-Lösung, 0,045-n:* 9,098 g $Ce(SO_4)_2 \cdot 4\,H_2O$ werden in 3,5-n Schwefelsäure (aus Schwefelsäure Merck für forensische Zwecke, $d = 1{,}84$) gelöst und mit 3,5-n Schwefelsäure auf 500 ml aufgefüllt. Die arsenige Säure und die Cer(IV)-sulfat-Lösung bedürfen bei Verwendung von p. a.-Reagenzien erfahrungsgemäß keiner Reinigung; ihr allfälliger Jodgehalt geht gleich dem der Natronlauge in die Eichkurve der photometrischen Jodbestimmung ein.

9. *Jodid-Stammlösung:* 118,1 mg Natriumjodid Merck p. a. bei 120° trocknen und mit bidest. Wasser auf 1000 ml lösen. Diese Lösung enthält 100 μg J/ml und wird nach Bedarf weiter verdünnt. Aufbewahrung in dunkler Flasche, gekühlt.

10. *68%ige Trichloressigsäure:* 340 g Trichloressigsäure Merck p. a. in bidest. Wasser zu 500 ml lösen.

Geräte

Jodbestimmungsapparaturen*.

Veraschungseinrichtung*, bestehend aus Heizplatte, Flüssigkeitsbad (Siliconöl Wacker AR 200 St) und einem Aufsatz zur Aufnahme von 12 Veraschungskölbchen.

Kapillarpipetten für 0,2, 0,25, 0,5 und 0,6 ml.

Einrichtung zur Eiskühlung*.

Vollpipetten für 1, 2, 2,5 und 6 ml.

Quarzglaswolle (Heraeus, Hanau).

12 graduierte Meßkölbchen mit Schliffstopfen*.

2 Mikrobüretten, 0,01-ml-Teilung.

2-ml-Mikrobürette, 0,01-ml-Teilung.

100-ml-Meßkolben.

10-ml-Meßkolben.

Thermostat mit Wasserbad zur Aufnahme 12 graduierter Meßkölbchen.

Photometer.

Reinigung der Glasgefäße: Alle neu verwendeten Glasgefäße sind 10 Minuten in heiße Schwefelsäure-Chromsäure einzulegen. Sodann wird gründlich mit Leitungswasser gespült und mit heißer 5%iger Lauge behandelt. Abermals mit Leitungswasser, dann mit bidest. Wasser spülen. Nach Durchführung der Bestimmung die Siliconreste an den Schliffen mechanisch entfernen. Einlegen der Veraschungskölbchen und Mittelkörper in Bäder von Trichloräthylen, heißer 5%iger Lauge und, nach Spülen mit Leitungswasser, von heißer Chromschwefelsäure. Nach Spülen mit Leitungswasser und bidest. Wasser das Glas auf Siliconfreiheit prüfen und unter Hartstrahlern trocknen. Die Vorlagelöffel ebenso behandeln, jedoch nur bis zu ihrem Schliffansatz in die Bäder einhängen.

Die Geräte zur Blutentnahme, am besten Flügelkanülen, kurz in heiße 5%ige Lauge einlegen und wie oben spülen.

Durchführung der Bestimmung

a) Gesamtjodbestimmung

0,5 ml Serum unter Zusatz von 2 ml bidest. Wasser in die Veraschungskölbchen pipettieren. Für Blindwerte je 2 ml bidest. Wasser. 6 ml Schwefelsäure und 0,6 ml Chromsäure sowie ein Siedesteinchen jedem Kölbchen zufügen. Nach Umschwenken die Veraschungskölbchen in den für sie bestimmten Aufsatz (Abb. 7) einstellen. In der Zwischenzeit soll das Flüssigkeitsbad auf der Kochplatte 130° erreicht haben. Den Aufsatz

* P. Haack, Wien, IX., Garnisongasse 3.

so weit in das Heizbad senken, daß die Veraschungskölbchen bis zur Höhe ihres Inhaltes eintauchen. Die Temperatur des Bades gleichmäßig innerhalb 40 Minuten auf 210° steigern. Ab 190° wird der Aufsatz so weit gesenkt, daß die Kölbchen bis zu ihrem Schliffansatz eintauchen. Ein Überschreiten der Veraschungszeit um 5 bis 10 Minuten infolge unterschiedlicher Heizintensität ist hierbei ohne Belang. Nach beendeter Veraschung den Einsatz mit den Kölbchen aus dem Heizbad nehmen, die Kölbchen von der Heizflüssigkeit durch Abwischen befreien und unter Eiswasser kühlen. 1 ml phosphorige Säure zusetzen. Das Volumen beträgt nun insgesamt 7 ml. In der Zwischenzeit werden in die Vorlagelöffel etwa 20 mg Quarzglaswolle locker verteilt eingelegt. 200 μl 10%ige Natronlauge aus der Kapillarpipette gleichmäßig auf der Quarzglaswolle verteilen. Die Schliffe mit Siliconpaste P-Wacker* versehen (klare Durchsicht) und die Vorlagelöffel in die Mittelkörper einsetzen. Die aus der Eiskühlung entnommenen, kräftig umgeschüttelten Veraschungskölbchen so in die Apparaturen einbauen, daß ihr bauchiger Teil nach unten gerichtet ist. Hierdurch wird vorzeitiges Auslaufen der Veraschungslösung bei waagrechter Lage der Apparatur vermieden (s. Abb. 3). Unter der Wasserstrahlpumpe evakuieren und die Apparaturen durch Verdrehen des Schliffes an der Vorlage und Schließen des Hahnes doppelt vakuumsichern. Verdrehen der Veraschungskölbchen nach oben (Abb. 3) zum Auslaufen der Veraschungslösung auf den Boden des Mittelkörpers; gleichmäßige Verteilung durch leichtes Schwenken. Auf möglichst vollständiges Auslaufen der Veraschungslösung ist zu achten. Die Apparaturen zur Isothermdiffusion für mindestens 12 Stunden (am besten über Nacht) bei 50° in den Trockenschrank legen.

Für die nachfolgende katalytische Jodbestimmung die Apparate belüften und ihre Vorlagen mit heißem, bidest. Wasser aus einer Mikrospritzflasche füllen. Nach Entleeren in die trichterförmige Erweiterung der graduierten Meßkölbchen diesen Vorgang wiederholen. Nun mit scharfem Strahl aus der Mikrospritzflasche die im Löffel haftende Quarzglaswolle von oben nach unten mit heißem, bidest. Wasser bis unter die 5-ml-Marke auswaschen. Die Quarzglaswolle bleibt hierbei auch bei senkrechter Haltung des Löffels darin haften. Nach Abkühlen bis zur 5-ml-Marke mit bidest. Wasser auffüllen, 0,4 ml arsenige Säure aus der Bürette zugeben und die Kölbchen mit ihrem Schliffstopfen verschlossen umschütteln. Zu den aus einer Bestimmungsserie stammenden sechs Kölbchen werden sechs Kölbchen für eine Eichkurve wie folgt angesetzt: 0,00, 0,20, 0,40, 0,60, 0,80, 1,00 ml der frisch bereiteten Jodidlösung (1 : 1000 Verdünnung der Jodidstammlösung, enthaltend 0,1 μg J/ml) werden in je ein Kölbchen aus der Bürette zugegeben, 200 μl Natronlauge

* Siehe Fußnote *** auf S. 497.

mit einer Kapillarpipette zugefügt und mit bidest. Wasser auf 5 ml aufgefüllt. Nach Zusatz von 0,4 ml arseniger Säure aus der Bürette in die Eichkölbchen alle 12 verschlossenen Kölbchen gleichzeitig in das auf 40° temperierte Wasserbad einstellen und eine Stoppuhr starten. Bei 14 Minuten 45 Sekunden das erste Kölbchen entnehmen, öffnen und bei voller 15. Minute 0,5 ml Cer(IV)-sulfat-Lösung aus der Bürette zugeben. Nach Schließen und Umschütteln das Kölbchen bei 15 Minuten 20 Sekunden an seinen Platz im Wasserbad zurückstellen. Bei 15 Minuten 45 Sekunden das zweite Kölbchen entnehmen, bei voller 16. Minute 0,5 ml Cersalzlösung zufügen. Die weiteren zehn Kölbchen in gleicher Weise und Zeitfolge behandeln. Bei 26 Minuten 20 Sekunden ist demnach das 12. Kölbchen an seinem Platz im Wasserbad.

Photometriert wird mit einem Filter vom Durchlässigkeitsmaximum bei 430 nm gegen Wasser in 2-cm-Küvetten. Bei 29 Minuten 45 Sekunden das erste Kölbchen entnehmen, öffnen und den Inhalt bei voller 30. Minute photometrieren. 15 Sekunden nachher den Durchlässigkeitsgrad ablesen und die Küvette entleeren. Sie steht für die Messung des zweiten Kölbchens zur vollen 31. Minute in derselben Art zur Verfügung. Die restlichen Kölbchen werden in gleicher Weise zu jeder vollen Minute in der Reihenfolge des Cer(IV)-sulfat-Zusatzes ausgewertet.

Die ermittelten Eichwerte, halblogarithmisch dargestellt, ergeben eine leicht gekrümmte Kurve. Aus dieser für jede Bestimmungsserie zu kontrollierenden Eichkurve werden die Jodgehalte der Proben abgelesen. Der tatsächliche Jodgehalt ergibt sich nach Abzug des zumindest für jeden neuen Reagenzienansatz zu ermittelnden Blindwertes.

Berechnung der Ergebnisse: (Abgelesene μg Jod — Blindwert) · 200 = = μg% Jod.

Bemerkung: Bei Anfall zahlreicher Proben genügt es, die Übereinstimmung mit der Eichkurve bei jeder Bestimmungsserie durch zwei Eichpunkte zu kontrollieren, so daß der Jodgehalt von 10 Proben bestimmt werden kann. Die nach obigen Angaben ermittelte Eichkurve (0,000 bis 0,100 μg J) umfaßt unter Berücksichtigung eines Blindwertes von 0,010 μg die Jodgehalte im Serum von 0,0 bis 18,0 μg%. Bei höheren Jodgehalten, die durch weitgehende bzw. völlige Entfärbung der gelben Cersalzlösung erkennbar sind, ist die Vorlage nach einer neu angesetzten Bestimmung so zu verdünnen, daß man bei aliquoten Teilen in den Bereich der Eichkurve gelangt. Der bei Festlegung der Eichkurve geltende Gehalt an Natronlauge (200 μl) ist entsprechend zu ergänzen, der durch die Verdünnung der Vorlage verminderte Blindwert zu berücksichtigen.

Die Quarzglaswolle-Einlage wird bei Reinigung des Löffels entfernt und kann für weitere Bestimmungen so lange verwendet werden, bis sie ihre feine Verteilung verliert.

Wird das Arbeiten ohne Quarzglaswolle-Einlage vorgezogen, so stellen die erhaltenen Ergebnisse nach Abzug des Blindwertes 80% des tatsächlichen Jodgehaltes dar und sind entsprechend zu korrigieren (s. Abb. 4).

b) Eiweißgebundenes Jod

0,5 ml Serum in den Veraschungskölbchen mit 2,5 ml bidest. Wasser verdünnen, 0,25 ml Trichloressigsäure zusetzen und nach Umschwenken 10 Minuten stehen lassen. Man zentrifugiert, saugt den Überstand mittels Wasserstrahlpumpe und gebogener Kapillare ab und wäscht das Präzipitat mit 0,25 ml Trichloressigsäure und 2,5 ml bidest. Wasser, wobei der Niederschlag mit einem Glasstab gründlich aufgewirbelt wird. Zentrifugieren. Nach Absaugen der überstehenden Flüssigkeit in gleicher Weise nochmals waschen. 2 ml bidest. Wasser zusetzen und nach Arbeitsvorschrift a) weiterbehandeln.

Anmerkung: Zweimaliges Waschen des Eiweißniederschlages zur Entfernung des anorganischen Serumjods ist bei Normalfällen ausreichend. Bei Seren nach Jodverabreichung so lange waschen (bis zu zehnmal bei z. B. 300 μg% anorganischem Serumjod), bis die katalytische Jodreaktion in der Waschflüssigkeit negativ bleibt.

Genauigkeit und Zeitaufwand der Methode

Bestimmt wurde an je 12 Proben desselben Serums (je 0,5 ml) der Gehalt an Gesamt- und eiweißgebundenem Jod sowie 12 Blindwerte. Die Ergebnisse zeigt die Tabelle 2.

Tabelle 2. Beleganalysen und Genauigkeit der Methode

App. Nr.	Blindwert			Eiweißgebundenes Jod			Gesamtjod		
	% D	μg J	Δ 10^{-3} μg	% D	μg J	Δ 10^{-3} μg	% D	μg J	Δ 10^{-3} μg
1	18,9	0,009	— 1	38,3	0,037	0	43,3	0,045	+ 1
2	19,6	0,010	0	37,1	0,036	— 1	42,4	0,042	— 2
3	20,7	0,012	+ 2	37,3	0,036	— 1	43,9	0,044	0
4	20,0	0,011	+ 1	40,1	0,039	+ 2	41,7	0,041	— 3
5	19,4	0,010	0	36,9	0,036	— 1	44,6	0,045	+ 1
6	19,0	0,009	— 1	36,4	0,035	— 2	43,2	0,043	— 1
7	19,5	0,010	0	41,0	0,040	+ 3	45,6	0,046	+ 2
8	18,3	0,008	— 2	39,8	0,039	+ 2	45,4	0,046	+ 2
9	20,1	0,011	+ 1	36,2	0,035	— 2	42,8	0,043	— 1
10	19,8	0,011	+ 1	39,0	0,038	+ 1	44,0	0,044	0
11	19,4	0,010	0	36,9	0,036	— 1	46,0	0,047	+ 3
12	18,8	0,009	— 1	40,0	0,039	+ 2	42,3	0,042	— 2
	M = 0,010 μg J			M = 0,037 μg J			M = 0,044 μg J		

Ergebnis: Gesamtjod ..... 0,034 μg $\pm$ 0,002 entsprechend 6,8 μg% $\pm$ 0,4
Eiweißgebundenes Jod..... 0,027 μg $\pm$ 0,002 entsprechend 5,4 μg% $\pm$ 0,4
Blindwert ..... 0,010 μg $\pm$ 0,001

Der Jodgehalt bekannter Mengen Thyroxin, Dijodtyrosin, Natriumjodid wurde sowohl mit als auch ohne Serum mit gleicher Genauigkeit bestimmt. Auch Jodbestimmungen in stark wasserhaltigen biologischen Materialien, z. B. Tränenflüssigkeit, Augenkammerwasser, Harn, waren zuverlässig. Dies bestätigt früher mitgeteilte Ergebnisse[2]: bei richtig gelenkter Veraschung und Isolierung des Jods solcher Proben sind Zusätze organischer Träger, wie Glykokoll u. a., unnötig. Die ohne diese gefundenen „Jodverluste von 15 bis 100%" (*Klein*[32], dort weitere Lit.) sind, wie mit ^{131}Jod bewiesen werden konnte, auf Störungen der Jodkatalysereaktion zurückzuführen, die einen Jodverlust vortäuschen.

Die Serumjodbestimmung wird meist in größeren Serien durchzuführen sein. Die Anschaffung mehrerer Apparate und die Einfachheit der Methode ermöglichen rationelles Arbeiten. Je Arbeitstag können bequem 24 Proben verascht und zur Diffusion über Nacht fertiggestellt werden. Die Auswertung erfolgt zweckmäßig am nächsten Morgen.

Die Methode hat bereits praktische Anwendung gefunden[35]. Bei Studien über die Jodverteilung im Auge nach verschiedenen Therapieformen bewährte sich das Verfahren auch für die Ermittlung des Jodgehaltes in einzelnen Geweben[36,37].

Sauberes, genaues Arbeiten, Vermeiden jeglicher Jodverseuchung und Beachtung der angegebenen Arbeitsvorschrift sind für zuverlässige Ergebnisse bei der erforderlichen Erfassung von Nanogramm Jod Voraussetzung.

Zusammenfassung

Es wird über eine neue, einfache Bestimmung des Gesamt- und eiweißgebundenen Jods in 0,5 ml Blutserum berichtet. Nach Schwefelsäure-Chromsäure-Aufschluß, vereinfacht in einem Gang ohne Cer(IV)-sulfat als Katalysator, wird die Jodsäure mit phosphoriger Säure reduziert. Alle Operationen werden mit einer kleinen, leicht zu handhabenden Apparatur durchgeführt. Die Isolierung des Jods aus der Veraschungslösung erfolgt mittels Isothermdiffusion in Natronlauge.

Untersuchungsergebnisse über die Beeinflussung der Jodausbeuten durch Variation der Schichtdicke der Veraschungslösung, des Druckes, der Temperatur, der Diffusionsdauer und der Alkalivorlage werden mitgeteilt. Bei gleichbleibenden Bedingungen der Isothermdiffusion zeigt sich, daß die relativen Jodausbeuten bei Vorgaben von Nanogrammmengen im Vergleich zu Mikrogrammengen zurückbleiben.

Dennoch gelingt es nach einer für Reihenuntersuchungen geeigneten Arbeitsvorschrift im Gegensatz zu den bisherigen Destillationsverfahren, nach verlustfreier und totaler Veraschung des Serums Jodausbeuten von praktisch 100% zu erzielen. Das in Alkali gebundene Jod wird in kleinem Volumen zur Gänze und störungsfrei seiner Bestimmung durch Katalysereaktion [Cer(IV)-sulfat—arsenige Säure] zugeführt.

Die Methode wurde in ihren Arbeitsgängen eingehend mit ^{131}Jod, auch biologisch in Serumeiweiß eingebaut, geprüft und ihre Standardabweichung mit $\pm$ 0,002 μg ermittelt.

Summary

A report is given of a new simple determination of the total- and protein bound iodine in 0.5 ml blood serum. After decomposing with chromic-sulfuric acid, simplified in one step without cerium (IV) as catalyst, the iodic acid is reduced by means of phosphorous acid. All operations are conducted with a small easily manipulated apparatus. The iodine is isolated from the ashing solution by "isothermal diffusion" in sodium hydroxide.

Findings relative to the effect on the iodine yields because of variation of the layer thickness of the ashing solution, pressure, temperature, diffusion period, and the alkali receiver are given. If the conditions of the isothermal diffusion are kept constant, the iodine yields in controls with nanogram amounts fall short in comparison with microgram amounts.

Nevertheless, it is possible, by using a procedure suitable for series investigations, to attain a loss-free and total ashing of the serum with iodine yields of practically 100% in contrast to the previous distillation method. The iodine combined in the alkali is delivered in small volumes for complete and smooth determination by the catalysis reaction [Ce(IV) sulfate–arsenious acid].

Résumé

Description d'une nouvelle méthode simple de dosage de l'iode total et de l'iode combiné à l'albumine dans un volume de 0,5 ml de serum sanguin. Après attaque par le mélange sulfochromique, en une seule opération et en l'absence de sulfate de cerium (IV) comme catalyseur, l'acide iodique est réduit par l'acide phosphoreux. Toutes les opérations sont effectuées à l'aide d'un petit appareil facile à manipuler. L'isolement de l'iode de la solution d'attaque est effectué par diffusion isothermique dans une lessive de soude. L'auteur communique les résultats de ses recherches relatives à l'influence sur le rendement en iode des variations de l'épaisseur de la couche de la solution d'attaque, de la pression, de la température, de la durée de diffusion et du récipient contenant la lessive alcaline.

Dans des conditions reproductibles de diffusion isothermique, il apparait que pour des quantités introduites de l'ordre du nanogramme les rendements en iode sont inférieurs à ceux que l'on obtient sur des quantités de l'ordre du microgramme. Il en est résulté que par application d'une mode opératoire approprié à des déterminations en série, il a été possible d'obtenir des rendements en iode égalant pratiquement 100% après attaque sans perte et complète du serum ce que ne permettait pas la technique de distillation employée jusqu'à ce jour. L'iode combiné à l'alcali est dosé dans un faible volume par réaction catalytique [sulfate de cerium (IV)—acide arsénieux], quantitativement et sans perturbation.

Literatur

[1] *A. Walser, H. Ludwig* und *G. v. Ortelli,* Helv. Med. Acta **21**, 413 (1954).

[2] *H. Spitzy* und *H. Lieb,* Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 273.

[3] *E. Klein,* Biochem. Z. **322**, 388 (1952); Röntgen- und Laboratoriumspraxis VI, H. 5, S. 120.

[4] *A. L. Chaney*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **12**, 179 (1940).
[5] *N. B. Talbot, A. M. Butler, A. H. Saltzmann* und *P. M. Rodriguez*, J. Biol. Chem. **153**, 479 (1944).
[6] *A. Taurog* und *I. L. Chaikoff*, J. Biol. Chem. **163**, 313 (1946).
[7] *S. B. Barker*, J. Biol. Chem. **173**, 715 (1948).
[8] *E. B. Sandell* und *I. M. Kolthoff*, Mikrochim. Acta **1**, 9 (1937).
[9] *Th. Leipert*, Biochem. Z. **261**, 436 (1933); **270**, 448 (1934); **280**, 416 (1935).
[10] *W. T Salter* und *A. McKay*, Endocrinology **35**, 380 (1944). *W. T. Salter* und *M. W. Johnston*, J. Clin. Endocrinology **8**, 911 (1948). *W. T. Salter* und *I. Rosenblum*, J. Endocrinology **7**, 180 (1951).
[11] *S. B. Barker* und *M. J. Humphrey*, J. Clin. Endocrinology **10**, 1136 (1950). *S. B. Barker, M. J. Humphrey* und *M. H. Soley*, J. Clin. Investigation **30**, 55 (1951).
[12] *W. N. Harsha*, Amer. J. Med. Science **221**, 626 (1951).
[13] *H. Brown, A. M. Reingold* und *M. Samson*, J. Clin. Endocrinology **13**, 444 (1953).
[14] *A. Grossmann* und *G. F. Grossmann*, J. Clin. Endocrinology **15**, 354 (1955).
[15] *B. Skanse* und *I. Hedenskog*, Skand. J. Clin. Lab. Investigation **7**, 291 (1955).
[16] *M. C. Sanz, T. Brechbühler* und *I. J. Green*, Clin. Chim. Acta **1**, 570 (1956); Clin. Chemistry **2**, 259 (1956).
[17] *J. D. Acland*, J. Physiol. **128**, 61 P (1955); Biochem. J. **62**, 30 P (1956); Biochem. J. **66**, 177 (1957).
[18] *D. D. van Slyke*, Vortrag, International Congress on Clinical Chemistry, Stockholm, 19. bis 23. August 1957.
[19] *H. Rosenmund*, Schweiz. med. Wschr. **87**, 878 (1957).
[20] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 123; **1956**, 869.
[21] *B. Zak, H. W. Willard, G. B. Myers* und *A. J. Boyle*, Analyt. Chemistry **24**, 1345 (1952).
[22] *L. W. O'Neal* und *E. S. Simms*, Amer. J. Clin. Pathol. **23**, 493 (1953).
[23] *H. H. Leffler*, Amer. J. Clin. Pathol. **24**, 483 (1954).
[24] *J. F. Goodwin, R. B. Hahn* und *A. J. Boyle*, Analyt. Chemistry **29**, 1681 (1957).
[25] *W. T. Caraway*, J. Clin. Endocrinology **12**, 1215 (1952).
[26] *A. van Zyl*, South African J. Med. Sci. **18**, 61 (1953).
[27] *F. Nesh* und *W. C. Peacock*, Analyt. Chemistry **22**, 1573 (1950).
[28] *Th. Schlösing*, J. prakt. Chem. **52**, 372 (1851).
[29] *E. J. Conway*, Microdiffusion Analysis and Volumetric Error. London: Crosby Lockwood & Son. 1950.
[30] *E. R. Tompkins* und *P. L. Kirk*, J. Biol. Chem. **142**, 477 (1942).
[31] *A. L. Chaney*, mündl. Mitteilung.
[32] *E. Klein*, Biochem. Z. **323**, 275 (1952).
[33] *J. J. Moran*, Analyt. Chemistry **24**, 378 (1952).
[34] *J. Fischl*, Clin. Chim. Acta **1**, 462 (1956).
[35] *A. Pillat, F. Trichtel* und *M. Oberhummer*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 520.
[36] *A. Pillat, F. Trichtel* und *M. Oberhummer*, v. Graefes Archiv für Ophthalmologie, z. Zt. im Druck.
[37] *F. Trichtel* und *H. Trichtel*, v. Graefes Archiv für Ophthalmologie, z. Zt. im Druck.

Aus dem Endokrinologischen Institut der Slovakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava, ČSR

Zur quantitativen Bestimmung von Jod in Milch

Von

Š. Németh und M. Menkyna

(Eingegangen am 7. November 1957)

Die quantitative Jodbestimmung in kleinsten Mengen Milch gehört zu den schwierigen Aufgaben der analytischen Chemie. Als wir in den Jahren 1955 und 1956 genötigt waren, uns mit diesem Problem zu beschäftigen, versuchten wir es mit einigen Mineralisations- und Destillationsverfahren, wie z. B. dem von *Vohnout* und *Brabencová*[4], und nach dessen Versagen mit der Methode von *Klein* zur Blutjodbestimmung[3]. Zu Routineanalysen eignete sich aber auch diese nicht. Den Grund sehen wir darin, daß es bei der Veraschungsprozedur dieser Verfahren, die in saurem Milieu vor sich geht, leicht zu Jodverlusten kommen kann, während anderseits die quantitative Zerstörung des organischen Materials, hauptsächlich der in der Milch vorhandenen Fettsäuren, nicht verbürgt ist. In diesem Falle gelangen zu hohe Jodwerte zur Ablesung.

Tabelle 1. Bestimmung der Gesamtmenge Jod in Kuhmilchproben mit der ermittelten Konzentration von 31,3 μg J/1000 ml nach Hinzufügung von 1 ml Kaliumjodidlösung

Nr. der Probe	Jodgehalt der hinzugefügten Lösung in μg/1000 ml	Gesamtmenge Jod		
		Erwartete Jodmenge in μg/1000 ml	Ermittelte Jodmenge	
			in μg/1000 ml	in %
1	100,0	131,3	138,6	105,6
2	100,0	131,3	126,5	96,3
3	100,0	131,3	126,5	96,3
4	100,0	131,3	138,0	105,6
5	100,0	131,3	132,5	100,9
6	200,0	231,3	220,8	95,5
7	200,0	231,3	227,7	98,4
8	200,0	231,3	238,0	102,9
9	200,0	231,3	227,7	98,4
10	200,0	231,3	227.7	98,4

Daher suchten wir nach einer Möglichkeit zur Vermeidung von Jodverlusten auch bei Erhöhung der Veraschungstemperatur auf Werte, die eine vollständige Zerstörung des organischen Materials verbürgen. Wir versuchten die Methode zur Blutjodbestimmung nach *Barker* und Mitarbeitern, bei der uns diese Vorzüge vorhanden zu sein schienen[1] (Beibehaltung des alkalischen Veraschungsmilieus und Veraschungstemperatur von 600° C). Bei Blutjoduntersuchungen leistet uns diese Methode die besten Dienste.

Tabelle 2. Bestimmung der Gesamtmenge Jod in Kuhmilchproben mit der ermittelten Konzentration von 31,3 µg J/1000 ml nach Hinzufügung von 1 ml einer wäßrigen 3,5-Dijodtyrosinlösung

Nr. der Probe	Jodgehalt der hinzugefügten Lösung in µg/1000 ml	Gesamtmenge Jod		
		Erwartete Jodmenge in µg/1000 ml	Ermittelte Jodmenge	
			in µg/1000 ml	in %
1	100,0	131,3	138,0	105,1
2	100,0	131,3	126,5	96,3
3	100,0	131,3	138,0	105,1
4	100,0	131,3	126,5	96,3
5	100,0	131,3	126,5	96,3
6	200,0	231,3	243,6	105,3
7	200,0	231,3	238,0	102,9
8	200,0	231,3	238,0	102,9
9	200,0	231,3	227,7	98,4
10	200,0	231,3	238,0	102,9

Eine detaillierte Beschreibung der Methode erübrigt sich, da sie im Original leicht nachzulesen ist. Wir verweisen daher an dieser Stelle bloß auf ihre Einfachheit, besteht sie doch außer der kolorimetrischen Bestimmung nur aus der Alkalisierung der Milch, dem Trocknen des Gemisches, seiner Veraschung und der Auflösung in einem Salzsäure-Schwefelsäuregemisch. Das Trocknen im Thermostaten über Nacht, wie es die Autoren der Methode empfehlen, ersetzen wir durch zweistündiges Eintauchen in ein kochendes Wasserbad, was denselben Effekt zeitigt. Bei der Kolorimetrie verwenden wir die Modifikation nach *Grossmann* und *Grossmann*[2], durch die eine Intensivierung der Farbreaktion erreicht wird, abgesehen davon, daß sie eine Vereinfachung der Arbeit bedeutet.

Als Beweis der Verwendbarkeit dieser Methode für die Bestimmung des Jodgehaltes der Milch führen wir zwei Tabellen an. Daraus ist ersichtlich, daß als Jodid oder in Form von Dijodtyrosin der Milch zugefügtes Jod mit einem geringen Fehler wiedergefunden werden kann.

Seither verwenden wir für Milchjodbestimmungen ausschließlich diese Methode, wobei wir trotz mehrerer tausend Analysen bis jetzt noch keinen einzigen Mißerfolg erlebten. Wir empfehlen das Verfahren wegen

seiner Genauigkeit, nicht zuletzt aber wegen seiner Einfachheit. Ein weiterer Vorteil ist die geringe Menge des benötigten Materials, was eine bedeutende Einsparung an Chemikalien bedeutet; wird doch zur Analyse nur 1 ml Milch benötigt.

Zusammenfassung

Die von *Barker* und Mitarbeitern angegebene Methode der Blutjodbestimmung ist sehr einfach und genau. Sie wird auch zur Bestimmung des Jods in Milch empfohlen.

Summary

The blood iodine determination devised by *Barker* and associates is very simple and accurate. It is likewise recommended for the determination of iodine in milk.

Résumé

La méthode décrite par *Barker* et collaborateurs pour le dosage de l'iode dans le sang est simple et précise. Elle est également recommandée pour le dosage de l'iode dans le lait.

Literatur

[1] *S. B. Barker, M. I. Humphrey* und *M. H. Soley*, J. Clin. Investigation **30**, 55 (1951).

[2] *A. Grossmann* und *G. Grossmann*, J. Clin. Endocrinology **15**, 354 (1955).

[3] *E. Klein*, Biochem. **Z. 322**, 388 (1952).

[4] *S. Vohnout* und *H. Brabencová*, Čas. Lék. Čes. **89**, 743 (1950).

Istituto di chimica organica dell'Università, Firenze

Radialverfahren zur Ausführung der Elektrophorese und der Elektrorheophorese auf Papier

Von

S. Berlingozzi, G. Rapi und **A. Mazza**

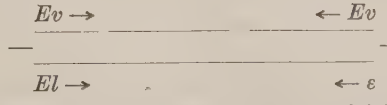
Mit 12 Abbildungen

(Eingegangen am 20. August 1957)

Die Elektrophorese in Lösung und auf Papier sind nunmehr geläufige Methoden der analytischen Chemie. Die Anwendung der einen oder der anderen Ausführungsart hängt von Fall zu Fall von ihrer spezifischen Charakteristik ab. Erstere ist viel genauer und gestattet die Bestimmung der Wanderungsgeschwindigkeit und des p_H, während die zweite vor allem viel billigere Apparate benützt, leichter auszuführen ist und mit äußerst geringen Substanzmengen auskommt. Außerdem muß die Substanz vor der Elektrophorese in Lösung einer Dialyse unterzogen werden, während dies für eine Elektrophorese auf Papier meist überflüssig ist[1].

In den letzten Jahren wurde durch *Macheboeuf* und Mitarbeiter[2] auf den interessanten Einfluß hingewiesen, den die Verdampfung während des Prozesses spielt. Es ist bekannt, daß der Verdampfung früher nur die Rolle eines Störfaktors zugeschrieben wurde, den man auf verschiedene Weise auszuschalten trachtete[3]. In der Folge konnte man aber feststellen, daß die in bestimmter Weise geregelte Verdampfung beachtliche Vorteile mit sich bringen kann. Die zitierten Autoren nannten die Methode mit freier Verdampfung Elektrorheophorese und konnten feststellen, daß in Übereinstimmung mit der Theorie die Wanderung der geladenen Teilchen in definierter Weise auch von der durch die Verdampfung hervorgerufenen Flüssigkeitsbewegung beeinflußt wird.

Die Elektrorheophorese kann durch folgendes Schema veranschaulicht werden:



El = Elektrophorese, *Ev* = Verdampfung, ε = Elektroendosmose.

In diesem Schema erreicht jede Substanz eine charakteristische Gleichgewichtslage und es zeigen sich folgende Vorteile:

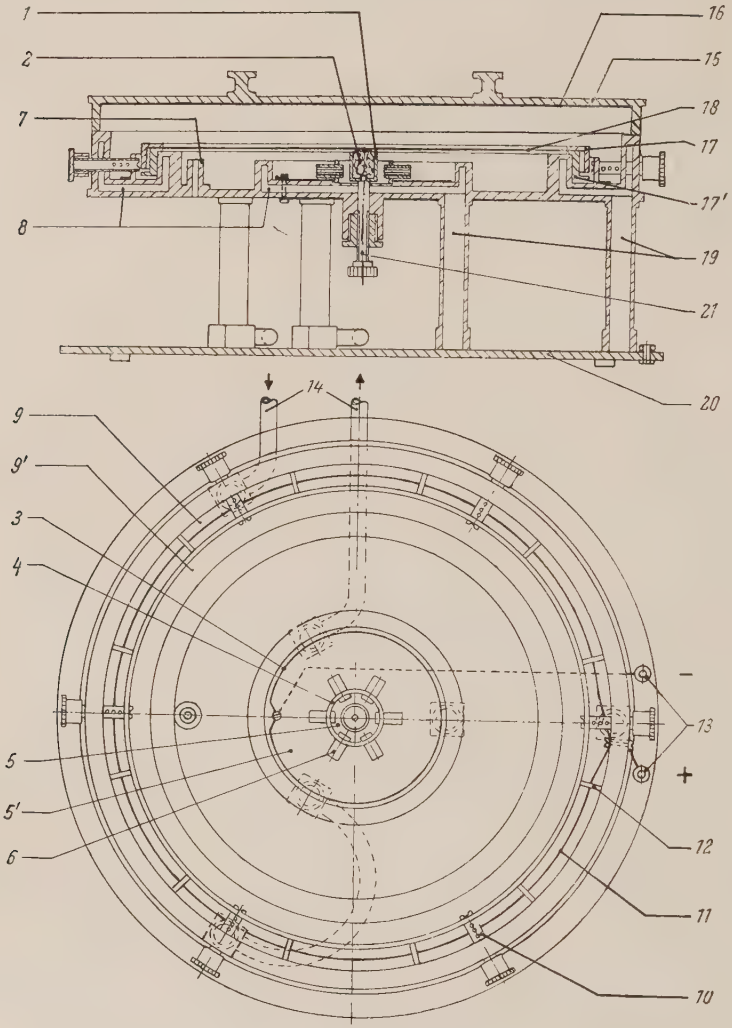


Abb. 1

ganz besonders ausgeprägte Deutlichkeit der Flecke;

die Möglichkeit, die Elektrophorese in Gegenwart kleiner und leicht diffundierender Ionen lang ausdehnen zu können;

Lokalisation der einzelnen Substanzen unabhängig von der Anfangsstellung;

zwei Anhäufungen derselben Substanz, die sich beiderseits des Gleichgewichtspunktes befinden, wandern in entgegengesetzter Richtung und vereinigen sich im Gleichgewichtspunkt;

eine Dialyse vor der Elektrophorese ist fast immer überflüssig;

es besteht die Möglichkeit, die elektrophoretische Beweglichkeit zu messen.

Während in der Papierchromatographie ein- und zweidimensionale sowie radiale Verfahren in Verwendung sind, wurde für die Elektrophorese auf Papier unseres Wissens nur das eindimensionale Verfahren angewendet. Übrigens haben wir in früheren Untersuchungen Gelegenheit gehabt, für die Chromatographie ein radiales Verfahren mit besonderen technischen Vorkehrungen mit guten Resultaten und bemerkenswerten Vorteilen anzuwenden[4]. Wir hielten es deshalb für nützlich, das radiale Verfahren auch auf die Elektrophorese und die Elektrorheophorese auszudehnen.

Zu dieser Frage haben wir schon eine vorläufige Mitteilung[5] gemacht und eine geeignete Apparatur beschrieben und haben uns vorbehalten, diese im Laufe ausgedehnter Versuche zu vervollkommnen. Wir sind jetzt in der Lage, eine solche vervollkommnete Apparatur und das Schema einer theoretischen Behandlung des Radialverfahrens anzugeben. In einer folgenden Veröffentlichung werden wir einige Anwendungen unserer Methode und deren mannigfache Vorteile behandeln.

*Beschreibung und Handhabung der Apparatur**

Der Apparat ist ganz aus Kunststoff hergestellt und gestattet die Verwendung von Papierscheiben mit einem Nutzdurchmesser von 18 cm. An Hand der Abb. 1 seien die einzelnen Teile näher beschrieben.

Der *Innenteil* besteht aus einem ringförmigen Gefäß *5'*, das mittels sechs Röhrchen, die mit Watte oder Glaswolle gefüllt sind und als Filter dienen, mit einem zweiten ringförmigen Gefäß *5* verbunden ist**. Im Gefäß *5'* befindet sich eine ringförmige Elektrode aus Platin *3*, die mit einer Platinschraube befestigt ist. In dem Gefäß *5* wird ein kleiner durchlochter Zylinder *1* mit der Kunststoffschraube *21* gehalten. Dieser Zylinder ist mit gepreßter Watte so gefüllt, daß diese über den Rand hervorragt. Der Durchmesser des Zylinders schwankt je nach der Type des Apparates; in der gewöhnlich verwendeten Form beträgt der Durchmesser 8 mm.

Der *Außenteil* ist ähnlich wie der Innenteil gestaltet und besteht aus einem ringförmigen Gefäß *9*, das mit einem nach innen gelegenen

* Die Apparatur ist durch das I. P. 525293 geschützt.

** Die Verwendung zweier kommunizierender Gefäße hat den Zweck, der p_H-Veränderung in der Nähe der Elektroden entgegenzuwirken (vgl. [6]).

Gefäß *9'* mittels sechs als Filter dienenden Röhrchen *10* verbunden ist. In *9* befindet sich eine zweite ringförmige Platinelektrode *11*, die durch die Stützen *12* gehalten wird. Der Anschluß *13* der beiden Elektroden* ist in der Figur gut sichtbar.

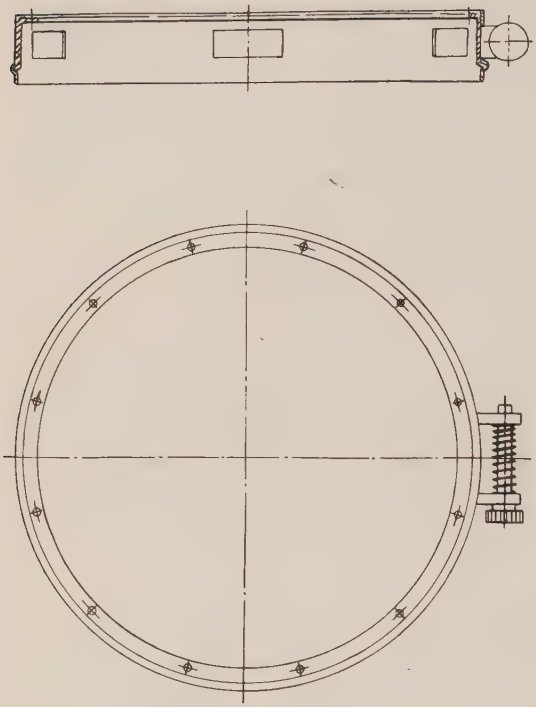


Abb. 2

Der *Mittelteil* verbindet den Außenteil mit dem Innenteil. Das Röhrchen *7* dient zur Entlüftung, um Verschiebungen der Papierscheibe zu vermeiden.

Die *Kühlung* erfolgt durch fließendes Wasser, das durch die Stützen *19* des Apparates eintritt und in den Hohlräumen der Gefäße *5*, *5'*, *9* und *9'* zirkuliert.

Die Papierscheibe wird auf den Ring *19* mit nach unten gebogenem Rande aufgelegt. Hierauf wird der zweite Ring aufgesetzt so daß die Scheibe zwischen den beiden Ringen eingeklemmt ist**. Diese Vorrichtung wird nun in das mit Pufferlösung gefüllte Gefäß *9'* eingetaucht. Um das Zentrum der Papierscheibe mit Wattebausch *2*, der ebenfalls mit Pufferlösung getränkt ist, in Berührung zu bringen, wird die Schraube *21* betätigt.

Der Apparat ist mit zwei verschiedenen Deckeln versehen. Der eine *15* ist aus Kunststoff hergestellt und dient dem Abschluß einer feuchten Kammer. An seiner Innenseite wird eine Filterpapierscheibe *16* befestigt, welche die Aufgabe hat, das verdampfte Wasser aufzunehmen. Dieses würde sich sonst auf der Innenseite des Deckels kondensieren und auf das Elektrophoresepapier zurücktropfen.

Der andere Deckel (s. Abb. 2) hat eine Deckscheibe aus Asbest und ist an der Seite mit verschließbaren Fenstern versehen. Für die Durch-

* Der Strom wird von einem stabilisierten Gleichrichter geliefert. Im Stromkreis befindet sich ein Voltmeter und ein Milliamperemeter.

** Im normalen Apparat hat die Papierscheibe einen Durchmesser von 18 cm.

führung einer Elektrophorese kann man beide Arten von Deckel anwenden, schließt aber bei der zweiten Art die Fenster. Auch muß bei der zweiten Art kein Filtrierpapier angebracht werden, da der Asbest die Feuchtigkeit aufnimmt. Will man eine Elektrorheophorese durchführen, darf nur der Asbestdeckel mit geöffneten Fenstern verwendet werden, da die Verdampfung nicht behindert werden darf. Verfügt man jedoch über ein geeignetes „Aquarium" mit einstellbarer Feuchtigkeit und Temperatur, ist es vorteilhaft, den Apparat ohne Deckel zu verwenden.

Anwendung des Apparates

Die Anwendung des beschriebenen Apparates sei am Beispiel einer Elektrophorese und einer Elektrorheophorese der Blutserumproteine beschrieben.

Elektrophorese. Vorbereitung der Analysensubstanz. Zu einem gewissen Volumen werden einige Tropfen einer 1%igen Lösung von Bromphenolblau in Pufferlösung hinzugefügt.

Wahl des Puffers. Für Blutplasma verwendet man die übliche Pufferlösung vom $p_H = 8{,}9$ folgender Zusammensetzung:

5,88	g	Veronal-Natrium;
3,88	g	Natriumacetat, krist.;
1,38	g	Kaliumoxalat;
20	ml	0,1-n Salzsäure;
		auffüllen auf 1 l.

Für Serum kann derselbe Puffer oder aber der folgende vom $p_H = 8{,}6$ verwendet werden:

9,81	g	Veronal-Natrium;
6,476	g	Natriumacetat, krist.;
60	ml	0,1-n Salzsäure;
		auffüllen auf 1 l.

Diese beiden Pufferlösungen haben wir modifiziert, indem wir 1% Propylenglykol hinzugefügt haben. Dieser Zusatz wurde bereits von einigen Autoren bei der kontinuierlichen Elektrophorese auf Papier verwendet. Das Propylenglykol erhöht die Viskosität des Puffers, vermindert die Konvektionsgeschwindigkeit und vermehrt die antikonvektiven Eigenschaften des Papiers. Es wird durch den elektrischen Strom nicht beeinflußt und verändert in der angegebenen Konzentration keinesfalls das p_H des Puffers; gleichzeitig wird praktisch die Polarisation an den Elektroden aufgehoben, was einen nicht zu unterschätzenden Vorteil darstellt.

Bei dieser Gelegenheit soll darauf hingewiesen werden, daß die Trocknung sehr rasch bei 100° vorgenommen werden muß. Während

des Trockenvorganges muß das Papier vollkommen horizontal gehalten werden und die Temperatur durchaus gleichförmig sein, um Verschiebungen der Substanzen im Papier hintanzuhalten*.

Abb. 3 *a*

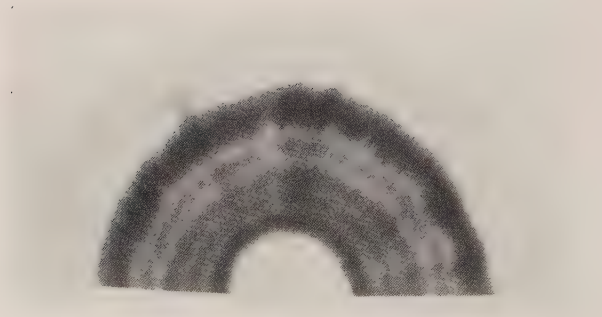


Abb. 3 *b*

Für die Radialelektrophorese werden dieselben Potentialdifferenzen wie für die Elektrophorese in Streifen angewendet. Es soll hier hervor-

* *Macheboeuf* und Mitarb.[2] tauchen das Papier nach der Elektrophorese direkt in das Farb- und Fixierbad, ohne es vorher zu trocknen.

Abb. 4 *a*. Normales Serum eines Erwachsenen in 6 verschiedenen Sektoren

Abb. 4 *b*. Gleichzeitig aufgenommene Elektrophorese 4 verschiedener Sera: 1, 2: Nephrosefälle, 3: Fall von akutem Gelenkrheumatismus, 4: Fall von infektiöser Leberentzündung

gehoben werden, daß unter sonst gleichen Umständen eine gute Trennung der fünf Proteinfraktionen des Serums *in einem Viertel der Zeit* durchgeführt werden kann.

Ausführung der Elektrophorese in der feuchten Kammer

Eine Scheibe Papier W_1 wird genau zugeschnitten, in der Halterung *17*, *17'* angebracht und das Ganze in *9'* fixiert. *9'* ist wie der Behälter *5*, *5'* mit Pufferlösung gefüllt. Indem man die Schraube *21* betätigt, bringt man die komprimierte Watte des Zylinders *1* mit dem Zentrum der Papierscheibe in Berührung. Sobald das Papier vollständig mit Pufferlösung getränkt ist, bringt man mittels eines Pinselchens die gewünschte Menge der zu analysierenden Lösung auf. Die Lösung muß in der Entfernung von 1,0 bis 1,5 cm vom Mittelpunkt längs eines Kreises oder eines Kreisbogens aufgebracht werden. Hierauf wird der Strom eingeschaltet (für Blutserum wird eine Spannung von 70 bis 90 V* angewendet). Der Ablauf der Elektrophorese kann bequem durch die Bromphenolreaktion verfolgt werden**. Die Globuline bleiben praktisch unsichtbar und können in der Folge mit Amidoschwarz 10 B mit der üblichen Technik nachgewiesen werden. Man verwendet hierzu eine konz. Lösung des Farbstoffes in Methylalkohol mit einem Zusatz von 10% Essigsäure. In der Abb. 3 ist das Elektropherogramm vor und nach der Entwicklung mit Amidoschwarz 10 B dargestellt. Dieser Farbstoff schaltet das Bromphenolblau aus und tritt in der Verbindung mit dem Eiweiß an seine Stelle.

Vielfachelektrophorese. Durch die Eigentümlichkeit des Radialverfahrens ist es möglich, mehrere Analysen *gleichzeitig und unter genau den gleichen Bedingungen auszuführen.* Zu diesem Zwecke bringt man die Probelösungen in der üblichen Weise mit dem Pinselchen auf verschiedene Kreisabschnitte auf. Auf einer Scheibe von 18 cm Durchmesser können gut bis zu sechs Analysen ausgeführt werden.

Elektrorheophorese. Die verschiedenen Operationen werden in der gleichen Weise ausgeführt, jedoch wird der Deckel des Apparates nicht verwendet. Der Apparat wird während der ganzen Versuchsdauer in einem Behälter mit konstanter Feuchtigkeit und konstanter Temperatur gehalten. Die Versuchsbedingungen können z. B. sein:

Temperatur 20°, relative Feuchtigkeit 75%. Unter solchen Bedingungen unterliegt jede Substanzlösung dem gleichzeitigen und wohldefinierten

* Das „Optimum" liegt bei 80 V.

** Wenn ein kleiner Überschuß des Farbstoffes vorhanden ist, stellt man zwei Farbringe fest, da die Wanderungsgeschwindigkeit des Farbstoffes größer ist als die der Proteine. Man hat also einen äußeren Ring, der durch den Farbstoff hervorgerufen ist, und einen intensiver gefärbten inneren Ring, der durch den an den Proteinen fixierten Farbstoff hervorgerufen wird.

Einfluß der Elektrophorese, der Elektroendosmose und der Verdampfung. (Wir wollen darauf noch später bei der theoretischen Behandlung des Radialverfahrens zurückkommen.)

Zu dem Zwecke der Feststellung des Ortes, wo die Proteine schließlich ihre Gleichgewichtslage finden werden, haben wir in einer Reihe von Untersuchungen das Bromphenolblau als elektrisch geladene und Glukose als elektrisch neutrale Substanz verwendet. Diese beiden Substanzen

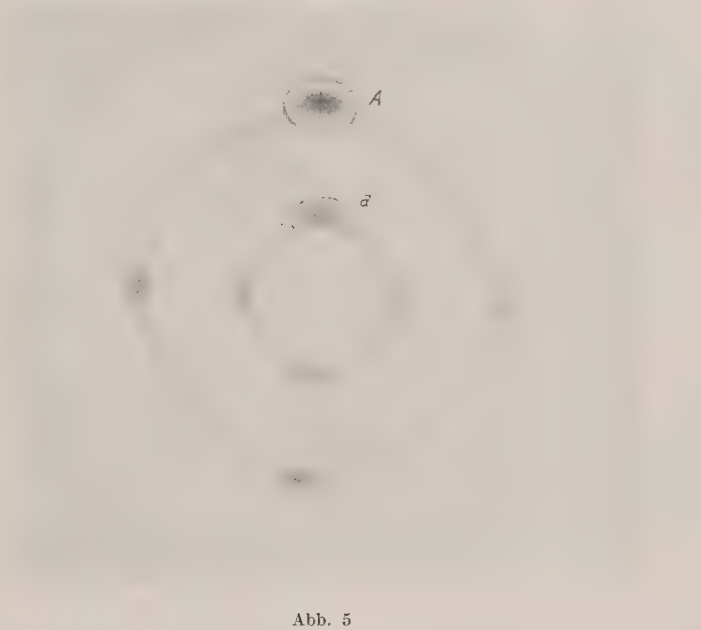


Abb. 5

werden nach Einschaltung des Stromes und Stabilisierung der Spannung auf 70 bis 90 V im Zentrum und am Umfange der Papierscheibe deponiert. Auch in diesem Falle kann man die Wanderung des Bromphenolblaus verfolgen, während die Glukose nur nach Beendigung der Operation mit einem Reagens oder aber durch einfaches Erwärmen, das einen gelb-braunen Ring hervorruft, sichtbar gemacht werden kann. Wie vorauszusehen war, erreicht jede Substanz unabhängig von der Ausgangsstellung eine Gleichgewichtslage. Das Ergebnis wird durch Abb. 5 dargestellt. Die Glukose und das Bromphenolblau sind in A bzw. im Zentrum vereinigt. Der Teil des Farbstoffes, der in der Peripherie, fast in der Gleichgewichtszone, aufgebracht war, hat sich kaum verlagert und sich mit dem im Zentrum aufgebrachten Farbstoff vereinigt. Ebenso hat sich die Glukose des Zentrums mit der Glukose aus A in der Gleichgewichtszone vereinigt.

Um eine Proteinelektrophorese durchzuführen, wird die Probelösung wie oben beschrieben auf das Papier aufgebracht. Es sei hier aber auf eine andere Art der Aufbringung der Untersuchungssubstanz bei der Radialelektrophorese hingewiesen. Diese Art entspricht in gewisser Beziehung der „Methode der schrägen Linie", die von *Macheboeuf* für die lineare Elektrophorese vorgeschlagen wurde. Wie in Abb. 6 und 7 zu sehen ist, wenden wir ein „Rhombensystem" an. Dieses bietet mannigfache Vorteile. Wie später bei der theoretischen Behandlung des Radialverfahrens auseinandergesetzt werden wird, erniedrigt sich während der Durchführung der Elektrophorese das Potential langsam. Diese Tatsache ist wahrscheinlich auf elektrolytische Vorgänge zurückzuführen, die auch eine merkliche Änderung des p_H zur Folge haben. Wird die Probesubstanz in Rhombenform aufgebracht, verringert sich die Dauer des Versuches und die erwähnte Unzukömmlichkeit wird auf diese Weise stark vermindert. Der Rhombus muß so gezogen werden, daß seine Seiten alle Kreise schneiden, auf denen sich die Gleichgewichtszonen der dem Versuch unterworfenen Substanzen befinden. Dies erreicht man, indem man der kleineren Diagonale eine Länge von 1,5 bis 2,0 cm gibt (dies gilt für den Fall der Serumproteine). Bei Stromdurchgang kreisen die Substanzen um Punkte, die sich in der ihnen zugehörigen Gleichgewichtslage befinden und der Punkt, in dem diese Kreise die Aufbringungslinie schneiden, ist die Gleichgewichtslage der in Frage stehenden Substanz.

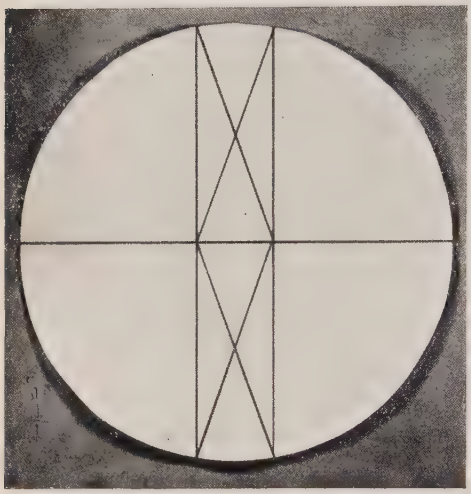


Abb. 6

Quantitative Bewertung der in den Radialelektropherogrammen getrennten Substanzen

Wie bekannt, sind gegenwärtig zwei Methoden in Gebrauch: Die Bestimmung nach Elution und die direkte photometrische Auswertung[7]. Wir selbst haben uns vorläufig nur der erstgenannten Methode bedient. Wie schon gesagt, wurden die Serumproteine mit Amidoschwarz 10 B sichtbar gemacht. Nach der vorherrschenden Meinung gibt dieses Reagens eine genügende Sicherheit hinsichtlich der regelmäßigen Anfärbung der einzelnen Proteine, so daß man von der Benützung eines Korrektions-

faktors Abstand nehmen kann. Wir wiederholen, daß dieses Reagens die Bromphenolfärbung praktisch aufhebt.

Für die Elution können verschiedene Lösungen verwendet werden, so z. B. die von *Z. Pučar*[8] vorgeschlagene, die aus 50%igem Methylalkohol mit einem Zusatz von 5 ml 1-n Natronlauge besteht. Sie liefert ein Eluat, dessen Extinktionsmessung bei 500 bis 600 nm vorgenommen

Abb. 7

wird. Wir haben die folgende Lösung für besonders vorteilhaft gefunden, da sie das Papier in kürzester Zeit zersetzt:

90 ml Natriumcarbonat, 10%ig;
10 ml Natriumhydroxyd, 50%ig.

Das Extinktionsmaximum liegt in diesem Falle zwischen 610 und 630 nm. Man schneidet einen Sektor der Papierscheibe aus und teilt ihn dann so, daß jedes Stück die den einzelnen Proteinfraktionen entsprechenden Zonen enthält. Jedes dieser Stücke wird nun in einer Eprouvette mit 5 ml der angegebenen Lösung kräftig geschüttelt. Das Papier wird zerfasert und der Farbstoff geht in die Lösung über. Man zentrifugiert und wäscht den Rückstand noch ein- bis zweimal mit der Elutionsflüssigkeit, die mit 1 ml Wasser verdünnt wird. Die zentrifugierte Lösung wird mit der Waschflüssigkeit vereint und die Extinktion bei 620 nm gemessen.

Für die Bestimmung der Lipoproteide* führt man die Färbung mit Sudanschwarz B aus. Die Elution wird mit kochendem n-Butanol durchgeführt. Das Extinktionsmaximum liegt in diesem Falle zwischen 590 und 610 nm.

Die Glykoproteide werden nach den gebräuchlichen Methoden[10] angefärbt.

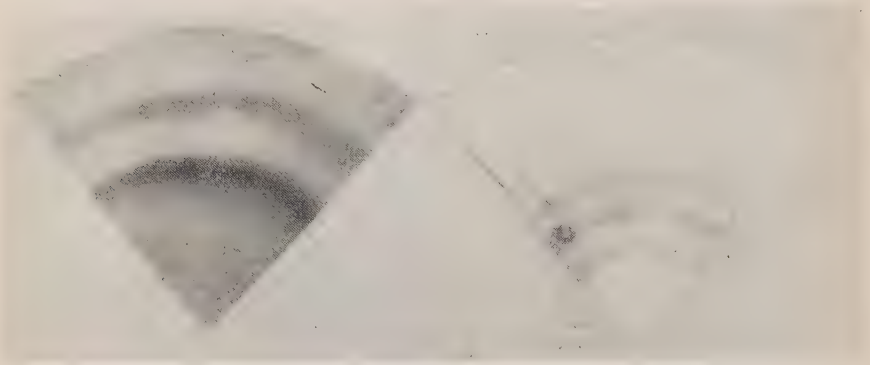


Abb. 8. Elektrophorese von 2 Seren. Links: Lipoproteide; Rechts: Glycoproteide

In allen beschriebenen Fällen von Färbung und Elution ist eine Blindprobe mit der verwendeten Papiersorte auszuführen.

Vorteile des elektrophoretischen und des elektrorheophoretischen Radialverfahrens

Bei Benutzung des hier beschriebenen „kleinen" Apparates mit Papierscheiben von 18 cm Durchmesser kann man bei Anwendung der vorgeschlagenen Technik gleichzeitig sechs Elektrophoresen mit Auftragung der Proben in Sektoren oder zwei Elektrorheophoresen mit Auftragung der Proben in Rhomben ausführen und dies in nur 3 Stunden bei einer Spannung von 80 V. Die Trennung der einzelnen Komponenten ist überaus klar und die einzelnen Komponenten sind gut distanziert. Die Bestimmung durch Elution ist rasch durchzuführen und gibt gute Resultate. Wir sind der Meinung, daß diese Art der Bestimmung unbedingt der direkten Photometrierung[11], wie sie jetzt fast ausschließlich für die Auswertung der linearen Elektropherogramme verwendet wird, vorzuziehen ist. Wir haben gegenwärtig Versuche im Gange, welche die Anwendung der direkten Photometrierung für das Radialverfahren zum Ziel haben. Über die Ergebnisse dieser Versuche werden wir in Kürze

* Hierfür muß man ungefähr die dreifache Menge Serum verwenden, für die Glykoproteide ist die Menge nur wenig größer[9].

berichten. Es sei hier noch hervorgehoben, daß die für einen Versuch nötige Substanzmenge nicht größer ist als für eine lineare Elektrophorese. Wird die gesamte Scheibe für nur eine Bestimmung verwendet, ist eine nur wenig größere Substanzmenge erforderlich.

Theorie des Radialverfahrens und ihre experimentelle Bestätigung

Um die beschriebene Apparatur in bester Weise verwenden zu können, haben wir es für nötig gehalten, das elektrophoretische Radialverfahren einer theoretischen Untersuchung zu unterziehen, um auf Basis der zugrunde liegenden Vorgänge zu einem analytischen Ausdruck der resultierenden Bewegung zu gelangen. Die theoretischen Ergebnisse sind dann mit dem Apparat selbst einer experimentellen Überprüfung unterzogen worden, die, wie später gezeigt wird, eine sehr zufriedenstellende Übereinstimmung ergab.

In der folgenden schematischen Behandlung betrachten wir zunächst die einzelnen Faktoren gesondert, um schließlich die Einzelergebnisse einer zusammenfassenden Beurteilung zu unterziehen.

Elektrophorese. Wie schon angedeutet, muß man bei der Behandlung der Elektrophorese der Verdampfung besonderes Augenmerk schenken, da die Wanderung der geladenen Teilchen im elektrischen Feld ganz wesentlich von der durch die Verdampfung hervorgerufenen Flüssigkeitsbewegung beeinflußt wird.

Bei dem von uns vorgeschlagenen Radialverfahren sind infolge der Kreissymmetrie des Apparates alle wichtigen Größen Funktionen des Abstandes r vom Mittelpunkt des Apparates. Wir wenden daher ein Polarkoordinatensystem mit dem Pol im Apparatemittelpunkt an und erhalten auf diese Weise nur funktionelle Beziehungen der Größe r.

Verdampfung. Wir hatten zunächst nur die durch die Joulesche Wärme hervorgerufene Verdampfung in Rechnung gestellt. In diesem Falle stimmten aber die Resultate der theoretischen Behandlung mit den Resultaten der experimentellen Überprüfung nicht gut überein. Wir konnten dann in der Folge feststellen, daß man zu einer befriedigenden Übereinstimmung gelangen kann, wenn man außer der Verdampfung durch die Joulesche Wärme auch die durch die Einflüsse der Umgebung hervorgerufene Verdampfung in Rechnung zieht. Die durch diese beiden Ursachen hervorgerufenen Flüssigkeitsströme wurden getrennt untersucht.

Betrachten wir zunächst die durch die Einflüsse der Umgebung hervorgerufene Verdampfung. Um die resultierende Flüssigkeitsbewegung zu untersuchen, nehmen wir an, daß die Verdampfung auf der gesamten Oberfläche der Papierscheibe gleichmäßig vor sich geht, sowie daß die Dicke σ der Flüssigkeitshaut im Papier konstant und unabhängig von r und der Zeit ist. Die in der Zeiteinheit verdampfte Flüssigkeitsmenge

ist also für jedes Flächenelement proportional seiner Oberfläche. Wenn wir mit c die Proportionalitätskonstante bezeichnen, so erhalten wir für die Menge Wasser, die in der Zeiteinheit auf dem Kreisring zwischen den Radien r_1 und r_2 verdampft:

$$m_{r_1 r_2} = c\,\pi\,|r_1^2 - r_2^2|.$$

Gleichzeitig mit der Verdampfung und durch sie hervorgerufen, bildet sich eine Strömung vom Zentrum gegen die Peripherie und umgekehrt aus, wobei die Flüssigkeit aus den betreffenden Behältern entnommen wird. Es wird ein Kreis mit dem Radius r_0 existieren, in dem keine Fließbewegung stattfindet. Betrachten wir nun einen beliebigen Kreis mit dem Radius r und bestimmen die Geschwindigkeit $v_a(r)$ der Flüssigkeit in dieser Kreislinie. Diese Geschwindigkeit resultiert aus dem Verhältnis der Wassermenge, die in der Zeiteinheit passiert (und die gleich ist der Wassermenge, die in dem Kreisring zwischen r und r_0 verdampft) zu der Länge des Kreises multipliziert mit der Dicke σ der Flüssigkeitshaut im Papier. Man erhält so unter der Annahme

$$a = \frac{c\,r_0^2}{2\,\sigma}, \quad b = \frac{c}{2\,\sigma}$$

folgende Beziehung:

$$v_a(r) = \frac{c\,\pi\,(r_0^2 - r^2)}{2\,\pi\,r\,\sigma} = \frac{c\,r_0^2}{2\,\sigma}\cdot\frac{1}{r} - \frac{c}{2\,\sigma}\,r = \frac{a}{r} - b\,r.$$

Die Zeit, die nötig ist, damit ein Flüssigkeitsteilchen, das r_1 vom Zentrum entfernt ist, im Punkt r_2 anlangt, ist gegeben durch*:

$$t = \int_{r_1}^{r_2} \frac{dr}{v_a(r)} = \frac{1}{b}\int_{r_1}^{r_2} \frac{r\,dr}{r_0^2 - r^2} = \frac{1}{b}\int_{r_1}^{r_2} \left[\frac{\frac{1}{2}}{r_0 - r} - \frac{\frac{1}{2}}{r_0 + r}\right] dr =$$

$$= \frac{1}{2\,b}\log\frac{r_0^2 - r_1^2}{r_0^2 - r_2^2}.$$

Experimentelle Bestätigung

Die eben aufgestellte Gleichung kann experimentell bestätigt werden, indem man wie folgt vorgeht: man füllt die Zellen des Apparates mit Pufferlösung, die 1% Propylenglykol enthält, bringt die Papierscheibe an ihren Platz und wartet 30 Minuten bis zur Einstellung des Gleichgewichtes. Dann bringt man im Zentrum sowie in verschieden entfernten Punkten Tropfen gefärbter Lösungen auf (z. B. 1% Bromphenolblau in Pufferlösung oder mit Bromphenolblau gefärbte Proteinlösungen) und

* r_1 und r_2 sind beide kleiner oder beide größer als r_0, und $|r_1 - r_0| > |r_2 - r_0|$. Weiters ist $\frac{a}{b} = r_0^2$.

verfolgt die Zeit der Bewegung der Farbflecke. Nach einigen Stunden vereinigen sich diese in der Gleichgewichtslage, indem sie je nach der Ausgangsstellung nach außen oder innen wandern. Diese Gleichgewichtslage hat den Radius 3,7 cm bei 22° C und 75% relativer Feuchtigkeit. Die Farbflecke wurden im Zentrum und in 6 cm Distanz links und rechts aufgebracht. Mit den Versuchsergebnissen kann man eine experimentelle

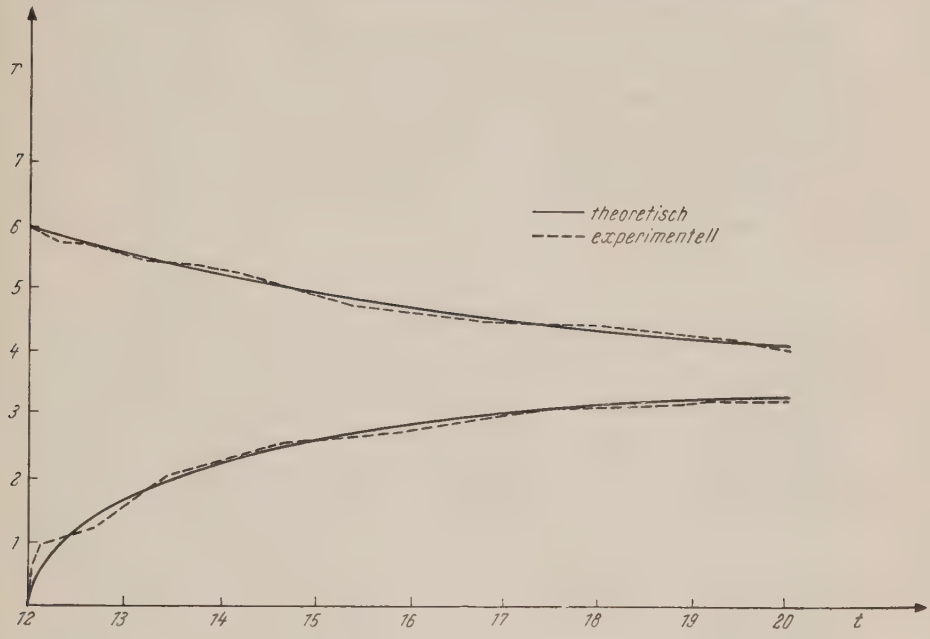


Abb. 9

Kurve des Weges als Funktion der Zeit aufstellen und sie mit der theoretisch berechneten Kurve vergleichen. Zu diesem Zwecke muß der Koeffizient $b = \frac{c}{2\,\sigma}$ bestimmt werden. Dies kann auf Grund desselben Versuches geschehen, indem man die Zeit $\bar{t}$ mißt, die ein Farbfleck benötigt, um den Weg zwischen zwei Punkten P_1 und P_2 zurückzulegen*, die vom Zentrum $\bar{r}_1$ bzw. $\bar{r}_2$ entfernt sind. Man erhält:

$$b = \frac{1}{2\,\bar{t}} \log \frac{r_0^2 - \bar{r}_1^2}{r_0^2 - \bar{r}_2^2}.$$

Der Verlauf der beiden Kurven stimmt sehr gut überein.

* Es ist günstig, wenn $\bar{r}_1$ und $\bar{r}_2$ wesentlich von r_0 verschieden sind. Sonst ist die Bewegung sehr langsam und es ist schwierig, das Verhältnis Weg : Zeit festzustellen.

Schaltet man nun den Strom ein, so entwickelt sich in der Papierscheibe Joulesche Wärme. Ein Teil dieser Wärme führt zur Verdampfung von Wasser aus der Papierscheibe. Betrachtet man diese *Verdampfung durch den Jouleschen Effekt* unabhängig von der *Verdampfung durch Umgebungseinflüsse* und addiert die erhaltenen Resultate, so stellt das Ergebnis der beiden Verdampfungsvorgänge die Resultierende zweier Komponenten dar.

Um die durch den Stromdurchgang hervorgerufene Verdampfung festzustellen (nicht die gesamte entwickelte Wärme wird zur Verdampfung verbraucht), nehmen wir an, daß das Verhältnis der Wärmemenge Q, die in einem Flächenelement in der Zeiteinheit entwickelt wird, zu der im Flächenelement in der Zeiteinheit verdampften Wassermenge konstant ist, und daß diese Konstanz auch für *jedes* Flächenelement und für *jede* Zeiteinheit gilt. Wir erhalten so:

$$\frac{Q}{m} = d.$$

Um Q berechnen zu können, nehmen wir an, daß $Q = 0{,}24 \cdot i^2 \cdot R\,t$ sei. Da wir direkt die Zeit t und die Stromstärke i messen können, bleibt nur die Bestimmung des Papierwiderstandes R übrig.

Zu diesem Zwecke betrachten wir einen Kreisring mit dem inneren Radius r und dem äußeren Radius $r + dr$. Der Widerstand dieses Kreisringes ist praktisch direkt proportional dr und umgekehrt proportional $2\,r\,\pi$; man erhält also:

$$dR = \frac{\varrho}{2\,\pi\,r}\,dr.$$

In dieser Gleichung ist ϱ der spezifische Widerstand, den wir in der ganzen Papierscheibe als konstant annehmen. Für den Widerstand R der Papierscheibe zwischen den Radien r_1 und r_2 ergibt sich also:

$$R = \int_{r_1}^{r_2} \frac{\varrho}{2\,\pi\,r}\,dr = \frac{\varrho}{2\,\pi} \log \cdot \frac{r_2}{r_1}.$$

Die Wärmemenge Q, die in derselben Zone in der Zeiteinheit entwickelt wird, ist gegeben durch:

$$Q = 0{,}24\,i^2\,R = 0{,}24\,i^2\,\frac{\varrho}{2\,\pi} \log \frac{r_2}{r_1}.$$

Die Wassermenge m, die in der Zeiteinheit in derselben Zone verdampft w ird, ist:

$$m = \frac{Q}{d} = \frac{0{,}24\,i^2\,\varrho}{2\,\pi\,d} \log \frac{r_2}{r_1}.$$

Infolge dieser Verdampfung wird Wasser aus der zentralen Kammer und am Umfang aufgenommen und es bildet sich ein Fluß vom Zentrum

gegen die Peripherie und umgekehrt aus. Es gibt einen Kreis mit dem Radius r_0', wo keine Flüssigkeitsbewegung stattfindet. Wir wollen nun bestimmen, welche Geschwindigkeit $v_c(r)$ die Flüssigkeit im Radius r (den wir kleiner als r_0' annehmen wollen) hat. Diese Geschwindigkeit ist proportional der diesen Kreis in der Zeiteinheit durchströmenden Wassermenge, bzw. der in dem Kreisring zwischen r und r_0' verdampften Wassermenge, und ist umgekehrt proportional dem Produkt aus $2\,r\,\pi$ und der Dicke der Flüssigkeitsschicht σ im Papier, die wir als konstant annehmen. Man erhält so:

$$v_c(r) = \frac{m}{2\,\pi\,r\,\sigma} = \frac{0{,}24\,i^2\,\varrho}{4\,\pi^2\,d\sigma} \cdot \frac{1}{r} \log \frac{r_0'}{r} = \frac{K}{r} \log \frac{r_0'}{r},$$

worin

$$K = \frac{0{,}24\,i^2\,\varrho}{4\,\pi^2\,d\sigma}.$$

Ist $r > r_0'$, können dieselben Überlegungen angestellt werden und es ergibt sich $\log \frac{r_0'}{r} < 0$. Dies ist in Übereinstimmung mit der Tatsache, daß im Inneren des Kreises mit dem Radius r_0' die Flüssigkeit nach außen wandert, während sie außerhalb dieses Kreises nach innen wandert. Der Ausdruck für $v_c(r)$ ist also im Werte und im Vorzeichen richtig. Wir sind so zu einem Ausdruck für die Flüssigkeitsbewegung gelangt, die durch die Joulesche Wärme hervorgerufen wird. Wie schon gesagt, nehmen wir an, daß die Geschwindigkeit $v_E(r)$ der Flüssigkeit, die irgendwie durch Verdampfung hervorgerufen wird, folgendermaßen dargestellt werden kann:

$$v_E(r) = v_a(r) + v_c(r) = \frac{a}{r} - b\,r + \frac{K}{r} \log \frac{r_0'}{r} = \frac{a}{r} - b\,r +$$

$$+ \frac{K}{r} \log r_0' - \frac{K}{r} \log r = \frac{F}{r} - \frac{K}{r} \log r - b\,r,$$

worin

$$F = a + K \log r_0'.$$

Experimentelle Bestätigung

Um die Flüssigkeitsbewegung zu untersuchen, die durch Überlagerung der normalen Verdampfung und der Verdampfung durch Joulesche Wärme hervorgerufen wird, läßt man auf das mit Pufferlösung getränkte Papier eine Wechselspannung von 80 V, 50 Perioden einwirken (22° C, 75% relative Feuchtigkeit). Bei Anwendung von Wechselstrom können Elektrophorese und Elektroendosmose als ausgeschaltet gelten. Die Farbflecke (s. oben) verlagern sich infolge der Verdampfung. Man erhält so eine Kurve der Verlagerung als Funktion der Zeit und vergleicht sie mit der theoretischen Kurve für $v_E(r)$. Man muß noch die Konstanten

F, K, b dieser Gleichung bestimmen. Wir bemerken, daß die Geschwindigkeiten v_1, v_2, v_3 der Flüssigkeit in dem Abstand r_1, r_2, r_3 bekannt sind. Man erhält durch Substitution die drei Gleichungen:

$$\frac{F}{r_1} - \frac{K}{r_1} \log r_1 - b\, r_1 = V_1, \tag{1}$$

$$\frac{F}{r_2} - \frac{K}{r_2} \log r_2 - b\, r_2 = V_2, \tag{2}$$

$$\frac{F}{r_3} - \frac{K}{r_3} \log r_3 - b\, r_3 = V_3, \tag{3}$$

mit welchen F, K und b bestimmt werden können. Man erhält aus (1):

$$F = V_1 r_1 + K \log r_1 + b\, r_1^2$$

und durch Substitution in (2):

$$V_1 r_1 + K \log r_1 + b\, r_1^2 - K \log r_2 - b\, r_2^2 = V_2 r_2,$$

daher

$$K = \frac{V_2 r_2 - V_1 r_1 + b\,(r_2^2 - r_1^2)}{\log r_1 - \log r_2}.$$

Durch Substitution in (3) erhält man

$$V_1\, r_1 + \frac{V_2 r_2 - V_1 r_1 + b\,(r_2^2 - r_1^2)}{\log r_1 - \log r_2} \log r_1 + b\, r_1^2 -$$

$$- \frac{V_2 r_2 - V_1 r_1 + b\,(r_2^2 - r_1^2)}{\log r_1 - \log r_2} \log r_3 - b\, r_3^2 = V_3\, r_3,,$$

daher

$$b = \frac{V_1 r_1 (\log r_2 - \log r_3) + V_2 r_2 (\log r_3 - \log r_1) + (V_3 r_3 \log r_1 - \log r_2)}{r_1^2 (\log r_3 - \log r_2) + r_2^2 (\log r_1 - \log r_3) + r_3^2 (\log r_2 - \log r_1)}.$$

Durch Substitution in die für K und F gefundenen Ausdrücke erhält man

$$K = \frac{V_1 r_1 (r_3^2 - r_2^2) + V_2 r_2 (r_1^2 - r_3^2) + V_3 r_3 (r_2^2 - r_1^2)}{r_1^2 (\log r_3 - \log r_2) + r_2^2 (\log r_1 - \log r_3) + r_3^2 (\log r_2 - \log r_1)},$$

$$F = \frac{V_1 r_1 (r_3^2 \log r_2 - r_2^2 \log r_3) + V_2 r_2 (r_1^2 \log r_3 - r_3^2 \log r_1) + V_3 r_3 (r_2^2 \log r_1 - r_1^2 \log r_2)}{r_1^2 (\log r_3 - \log r_2) + r_2^2 (\log r_1 - \log r_3) + r_3^2 (\log r_2 - \log r_1)}.$$

Um v_1, v_2 und v_3 auf Grund der Ergebnisse desselben Versuches bestimmen zu können, wählt man auf der experimentellen Kurve drei Punkte, die den Entfernungen vom Zentrum r_1, r_2 und r_3 entsprechen, und bestimmt den Wert der Tangente in diesen Punkten (die Zeiten finden sich auf der Abszisse und die Wege auf der Ordinate). Die Werte dieser Winkelfunktionen sind die gesuchten Werte für v_1, v_2 und v_3; mit ihrer Hilfe können nun F, K und b berechnet werden. Wir machen darauf aufmerksam, daß es wichtig ist, r_1, r_2 und r_3 so zu wählen, daß

die Ablesung von v_1, v_2 und v_3 nicht schwierig ist. Um die Kurve zeichnen zu können, muß das Integral

$$t = \int_{r_1}^{r_2} \frac{dr}{v_E(r)}$$

berechnet werden. Am besten bestimmt man den Wert des Integrals auf graphischem Wege; man kann dann die Kurve der Fleckwanderung

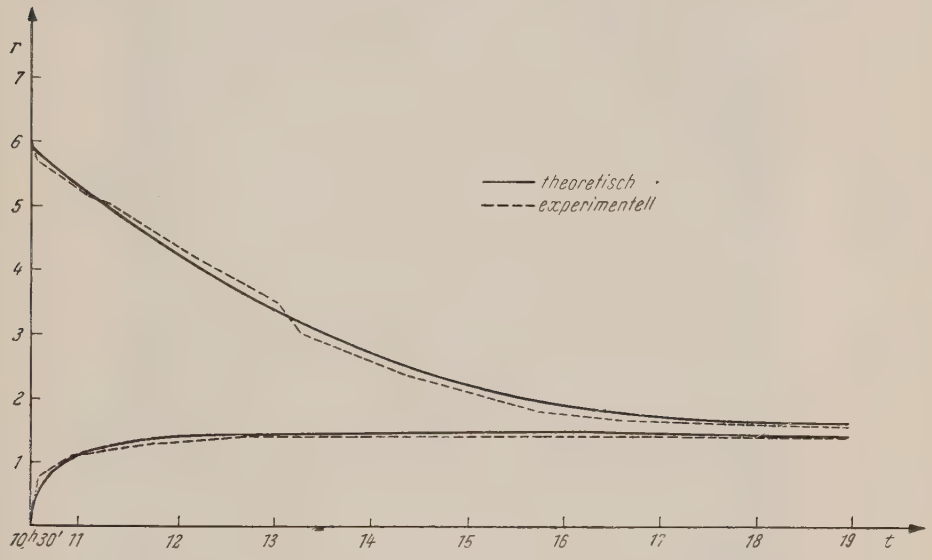


Abb. 10

als Funktion der Zeit zeichnen. Abb. 10 zeigt die gute Übereinstimmung der theoretischen und der experimentellen Kurve.

Wir müssen nun noch die durch die Elektroendosmose und die Elektrophorese hervorgerufenen Effekte behandeln. Durch die *Elektroendosmose* wird eine gewisse Flüssigkeitsmenge vom positiven zum negativen Pol befördert. Es bildet sich eine Potentialdifferenz zwischen der Pufferlösung und der Oberfläche der Papierscheibe aus (diese lädt sich negativ gegen die Pufferlösung auf). Da wir die Dicke der Flüssigkeitshaut im Papier σ als konstant angenommen haben, ergibt sich für die Geschwindigkeit $v_e(r)$ der Flüssigkeit, die nur der Elektroendosmose zuzuschreiben ist (ohne eine Verdampfung zu berücksichtigen), folgender Ausdruck:

$$v_e(r) = \frac{L}{r},$$

in dem L eine Konstante ist. Die Elektroendosmose kann untersucht werden, indem man auf das Papier elektrisch neutrale Substanzen, wie z. B. Glukose, aufbringt.

Werden auf die Papierscheibe ionisierte Substanzen aufgebracht, so wandern diese, teils weil sie von der Flüssigkeit mitgeführt werden, teils durch Elektrophorese zum Pol mit dem umgekehrten Vorzeichen. Wir nehmen einfach an, daß diese Substanzen an verschiedenen Punkten der Papierscheibe durch den elektrophoretischen Effekt eine Geschwindigkeit $v_E(r) = \frac{M}{r}$ besitzen, worin M eine Konstante ist. Wir können nun

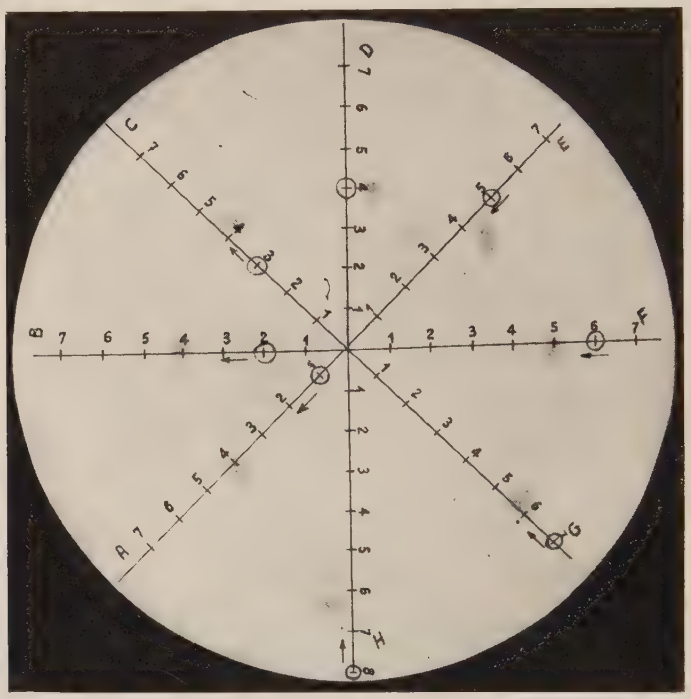


Abb. 11

die Bewegung irgendeiner Substanz durch welche Ursache immer beschreiben. Wie schon gesagt, kann die Geschwindigkeit $V(r)$, welche durch die Summe aller Ursachen hervorgerufen wird, durch

$$V(r) = V_E(r) + V_e(r) + V_\varepsilon(r) = \frac{F}{r} - \frac{K}{r}\log r - \frac{b}{r} + \frac{L}{r} + \\ + \frac{M}{r} = \frac{G}{r} - \frac{K}{r}\log r - b\,r$$

ausgedrückt werden, unter der Annahme

$$G = F + L + M.$$

Experimenteller Nachweis. Auch der Wert für $V(r)$ kann in analoger Weise nachgeprüft werden. Man wiederholt den Versuch, wie er zur

Bestimmung von $V_E(r)$ angegeben wurde, nur unter Verwendung einer Gleichspannung von 80 V. Der Versuch wird in einer thermostatischen Kammer ausgeführt, um alle Versuchsbedingungen genau konstant zu halten. Nach den zur Einstellung des Gleichgewichtes notwendigen 30 Minuten, bringt man im Zentrum und in verschiedenen Entfernungen (s. Abb. 11) Tropfen einer Lösung von Proteinen und Bromphenolblau auf.

Man verfolgt die Wanderung der Flecke durch 2 Stunden und erhält so die experimentelle Kurve (Abb. 12). Man konstruiert zum Vergleich

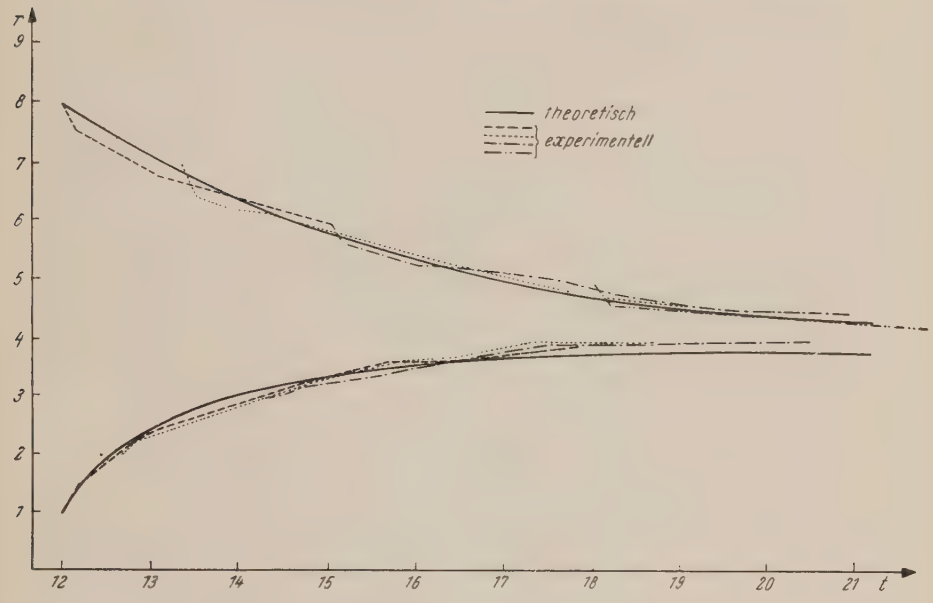


Abb. 12

die theoretische Kurve auf dieselbe Art, wie sie für $V(r)$ angegeben ist. Wie Abb. 12 zeigt, ist die Übereinstimmung zufriedenstellend.

Auf Grund des für $V(r)$ gefundenen Ausdruckes für die Bewegung einer beliebigen Substanz* kann man schließen, daß es *für jede Substanz*

* Wir benützen diese Methode, um die Änderung der Spannung und der Stromstärke in vernachlässigbaren Grenzen zu halten. Nach 6 bis 7 Stunden sind diese Änderungen schon bedeutend. Die Spannung sinkt infolge der Verminderung des Innenwiderstandes der Apparatur ab und man muß während des Versuches öfters nachregulieren. Dies hat natürlich auch immer eine Zunahme der Stromstärke zur Folge. Jedenfalls haben wiederholte Versuche gezeigt, daß bei Einhaltung einer konstanten Stromstärke (wobei die Spannung von 80 V auf 60 V absinkt) oder bei Einhaltung der konstanten Spannung von 70 V die Gesetze der Flüssigkeitsbewegung nicht merkbar betroffen werden.

einen ganz bestimmten Kreis gibt, wo die Substanz bewegungslos bleibt: Der Radius dieses Gleichgewichtskreises, welcher mit r_{eq} bezeichnet sei, ist die Lösung der Gleichung $V(r) = 0$.

Wenn wir also Substanzen mit verschiedener elektrophoretischer Wanderungsgeschwindigkeit untersuchen, die natürlich jede für sich einen verschiedenen M-Wert besitzen, bewegt sich jede dieser Substanzen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen in verschiedener Weise infolge des verschiedenen G-Wertes in dem Ausdruck für $V(r)$. Natürlich ist auch der Wert r_{eq} für die verschiedenen Substanzen nicht gleich.

Die Bestimmung der elektrophoretischen Beweglichkeit

Die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit einer Substanz auf dem Papier ist nicht gleich der Beweglichkeit μ nach *Tiselius*. Infolge der Faserstruktur des Papiers muß ja die Flüssigkeit auf einem unregelmäßigen und gewundenen Wege wandern. Nehmen wir nun an, daß das Papier die Flüssigkeit nur zur Wanderung auf einem gewundenen Wege zwingt, ohne die Bewegung zu behindern, und betrachten wir gleichzeitig vier verschiedene Substanzen, deren elektrophoretische Geschwindigkeiten $\frac{M_1}{r}$, $\frac{M_2}{r}$, $\frac{M_3}{r}$, $\frac{M_4}{r}$ sind. Bezeichnen wir mit r_{1eq}, r_{2eq}, r_{3eq}, r_{4eq} die betreffenden Radien der Gleichgewichtslage und setzen wir $N = F + L$, so erhalten wir:

$$\frac{N + M_1}{r_{1eq}} - \frac{K}{r_{1eq}} \log r_{1eq} - b\, r_{1eq} = 0,$$

$$\frac{N + M_2}{r_{2eq}} - \frac{K}{r_{2eq}} \log r_{2eq} - b\, r_{2eq} = 0,$$

$$\frac{N + M_3}{r_{3eq}} - \frac{K}{r_{3eq}} \log r_{3eq} - b\, r_{3eq} = 0,$$

$$\frac{N + M_4}{r_{4eq}} - \frac{K}{r_{4eq}} \log r_{4eq} - b\, r_{4eq} = 0.$$

Aus den ersten drei Gleichungen leiten wir ab:

$$\frac{N}{r_{1e\,q}} - \frac{K}{r_{1eq}} \log r_{1eq} - b\, r_{1eq} = -\frac{M_1}{r_{1eq}},$$

$$\frac{N}{r_{2eq}} - \frac{K}{r_{2eq}} \log r_{2eq} - b\, r_{2eq} = -\frac{M_2}{r_{2eq}},$$

$$\frac{N}{r_{3eq}} - \frac{K}{r_{3eq}} \log r_{3eq} - b\, r_{3eq} = -\frac{M_3}{r_{3eq}}.$$

Nehmen wir M_1, M_2, M_3 als bekannt an, so ist es möglich, N, K und b zu berechnen. Setzt man diese Werte in die vierte Gleichung ein, so kann man M_4 berechnen. Man erhält:

$$r_{4eq}\left(\frac{N}{r_{4eq}} - \frac{K}{r_{4eq}} \log r_{4eq} - b\, r_{4eq}\right) = M_4.$$

Bringt man also auf die Papierscheibe Glukose und drei verschiedene Proteine auf, von denen nur für zwei die elektrophoretische Wanderungsgeschwindigkeit bekannt ist, so kann man aus dem Gleichgewichtsradius die unbekannte Wanderungsgeschwindigkeit des dritten Proteins berechnen. Der Vergleich der mit unserer Methode gefundenen Wanderungsgeschwindigkeiten mit den Werten, die nach jetzt üblichen Methoden gefunden werden, führt zu überaus interessanten Resultaten.

Bremskoeffizient

Wir haben bis jetzt angenommen, daß die Flüssigkeit in ihrer Wanderung im Papier keinem Einfluß des Papiers ausgesetzt ist. Dies ist aber im allgemeinen nicht ganz der Fall. Eine Behinderung kann aus verschiedenen Ursachen auftreten, wie z. B. durch die Form und die Dimensionen der Moleküle, durch Affinität der Substanzen zur Zellulose usw. Wir müssen also in die Geschwindigkeitsgleichung einen Bremsfaktor $C < 1$ einführen, bzw. die Konstanten G, K und b mit diesem Faktor multiplizieren. Zwei Substanzen mit der gleichen Wanderungsgeschwindigkeit haben denselben Gleichgewichtsradius. Tatsächlich ändert sich die Gleichung nicht, wenn die Koeffizienten G, K und b mit einem gleichen Faktor, der nicht Null ist, multipliziert werden.

Die Tatsache, daß sich Flüssigkeit und gelöste Substanz im Papier nicht geradlinig bewegen, sondern einen gewundenen Weg durchlaufen, hat für unsere Überlegungen keine Bedeutung. Die scheinbare Wanderung, die gemessen wird, ist proportionell der wirklichen Wanderung, infolgedessen sind auch die betreffenden Geschwindigkeiten proportional.

Nach dem Dargelegten ergibt sich also ein Ausdruck für die Geschwindigkeit einer Substanz bei der Elektrorheophorese im Radialverfahren unter den beschriebenen Umständen, mit sehr guter Annäherung:

$$V(r) = \frac{G}{r} - \frac{K}{r} \log r - b\, r.$$

Die untersuchten Substanzen bewegen sich nach diesem Gesetz, bis sie die Gleichgewichtslage erreichen*. Diese ist für die elektrisch neutralen Substanzen durch die Verdampfung und die Elektroendosmose, das heißt durch die damit verursachte Flüssigkeitsbewegung gegeben, bei den elektrisch geladenen Substanzen hängt diese Gleichgewichtslage auch von der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit ab.

---

* Natürlich beschränken wir uns auf die untersuchten Substanzen und auf die angewendeten Versuchsbedingungen, das heißt wir nehmen an, daß die Koeffizienten G, K, b, welche in $V(r)$ aufscheinen, nur in gewissen Grenzen variieren.

Wir haben uns bis jetzt mit dem elektrorheophoretischen Prozeß beschäftigt, möchten aber nun einige Bemerkungen über die einfache Radialelektrophorese machen.

Um den elektrophoretischen Vorgang in dem von uns beschriebenen Apparat zu kennzeichnen, genügt nicht die Angabe, daß der Prozeß in wasserdampfgesättigter Atmosphäre stattfindet. Man darf nicht übersehen, daß während des Versuches nicht ein statisches, sondern ein dynamisches Gleichgewicht vorliegt. Die Außenwände des Apparates haben die Umgebungstemperatur, die Papierscheibe aber erwärmt sich durch den Joule-Effekt und hat sicher eine höhere Temperatur. Es verdampft Wasser vom Papier und kondensiert an den Innenwänden oder fällt sogar auf das Papier zurück. Versuche haben gezeigt, daß der Joule-Effekt die Flüssigkeitsbewegung beeinflußt, während die Einflüsse der Umgebung nicht zählen. Die theoretische Behandlung des Prozesses ist also wie ein Sonderfall der Elektrorheophorese zu betrachten. Da die Verdampfung durch die Umgebungseinflüsse Null ist, muß man $b = 0$ setzen. Da man jetzt nur noch zwei Konstante hat, F und K, braucht man zur Bestimmung des Bewegungsgesetzes nur noch zwei Gleichungen. So genügt es, die Geschwindigkeit einer einzigen Substanz an zwei verschiedenen Punkten zu kennen.

Zusammenfassung

Die theoretische Bearbeitung des elektrophoretischen und des elektrorheophoretischen Radialverfahrens und die experimentelle Überprüfung der Resultate zeigen, daß es unter Verwendung des von uns vorgeschlagenen und beschriebenen Apparates möglich ist, für jede Substanz einen charakteristischen Index der elektrophoretischen Beweglichkeit zu bestimmen. Dieser Index erlaubt den Nachweis der betreffenden Substanz.

Summary

The theoretical treatment of the electrophoretic and the electrorheophoretic radial process and the experimental checking of the results show that by employing the apparatus suggested and described by the authors it is possible to determine for each substance a characteristic index of electrophoretic mobility. This index permits the identification of the substance in question.

Résumé

L'étude théorique de la méthode d'électrophorèse et d'électrorhéophorèse radiales et le contrôle expérimental des résultats obtenus montrent qu'en employant l'appareil que nous avons recommandé et décrit, il est possible de déterminer pour chaque substance un indice caractéristique de la mobilité électrophorétique. Cet indice permet l'identification de la substance considérée.

Literatur

[1] *A. Tiselius*, The Harvey Lectures **35**, 37 (1939—40); *H. D. Cremer* und *A. Tiselius*, Biochem. Z. **320**, 273 (1950); *W. Grassmann, K. Hannig* und *M. Knedel*, Dtsch. med. Wschr. **76**, 333 (1951); *W. Grassmann* und *K. Hannig*, Naturwiss. **37**, 496 (1950); *F. V. Flynn* und *P. De Mayo*, Lancet **2**, 235 (1951); *H. Ott, H. Huber* und *G. Körver*, Klin. Wschr. **30**, 34 (1952); *J. Goa*, Scand. J. Clin. Lab. Invest. **3**, 236 (1951); *R. Caspani* und *C. Bernasconi*, Minerva Med. **43**, I, 1289 (1952); *W. Grassmann* und *K. Hannig*, Z. physiol. Chem. **290**, 1 (1952); *V. Martini* und *G. Riva*, Giorn. biochim. **2**, 167 (1953); *H. Svensson* und *B. Olhagen*, Sci. Tools (Stockholm) **1**, 9 (1954).

[2] *M. Macheboeuf, P. Rebeyrotte, J. M. Dubert* und *M. Brunerie*, Bull. soc. chim. biol. **35**, 334 (1953); *M. Macheboeuf, J. M. Dubert* und *P. Rebeyrotte*, Bull. soc. chim. biol. **35**, 346 (1953).

[3] *E. L. Durrum*, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 2943 (1950); Science **113**, 66 (1951); *F. Turba* und *H. J. Enekel*, Naturwiss. **37**, 93 (1950); *H. D. Cremer* und *A. Tiselius*, l. c. [1]; *G. Schneider*, Acta Chem. Scand. **5**, 1020 (1951); *G. Schneider* und *Ch. Wunderly*, Schweiz. med. Wschr. **82**, 445 (1952); *M. Macheboeuf, P. Rebeyrotte* und *M. Brunerie*, Bull. soc. chim. biol. **34**, 26 (1952).

[4] *S. Berlingozzi* und *G. Serchi*, Sperimentale, Sez. chim. biol. **3**, 1 (1952); *S. Berlingozzi, G. Serchi, P. Michi* und *G. Rapi*, Sperimentale, Sez. chim. biol. **3**, 45, 125 (1952); *S. Berlingozzi* und *G. Rapi*, Sperimentale, Sez. chim. biol. **4**, 64, 69, 75 (1953—54); *S. Berlingozzi, G. Adembri* und *G. Bucci*, Gazz. chim. ital. **84**, 393 (1954).

[5] *S. Berlingozzi* und *G. Rapi*, Chim. e ind. (Milano) **37**, 351 (1955).

[6] *M. Macheboeuf, P. Rebeyrotte* und *M. Brunerie*, l. c. [3]; *F. V. Flynn* und *P. De Mayo*, l. c. [1].

[7] *C. Wunderly*, Exp. Ann. Biochem. Med. **14**, 173 (1952).

[8] *Z. Pučar*, Z. physiol. Chem. **296**, 62 (1954).

[9] *B. Swahn*, Scand. J. Clin. Lab. Invest. **4**, 98 (1952).

[10] *R. D. Hotchkiss*, Arch. Biochem. **16**, 131 (1948); *E. Köiw* und *A. Grönwall*, Scand. J. Clin. Lab. Invest. **4**, 244 (1952).

[11] *W. Grassmann* und *K. Hannig*, l. c. [1].

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der L. Eötvös Universität, Budapest, und der Materialprüfungsabteilung der Csepel Eisen- und Metallwerke, Budapest

Einwirkung des Magnesiums als dritter Legierungsbestandteil auf die Bestimmung von Zink in Aluminium

Von

T. Török und **S. Cséti**

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 28. September 1957)

Nach unseren bei der Betriebsanalyse des Abfallaluminiums erhaltenen Erfahrungen beeinflußt der Magnesiumgehalt die Zinkauswertungskurve wesentlich. Wir sind einer so starken Einwirkung des dritten Legierungsbestandteiles weder in der Literatur noch in unserer eigenen Praxis jemals begegnet.

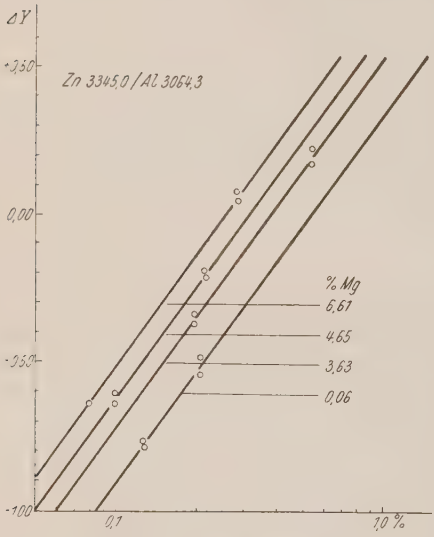


Abb. 1. Auswertungskurven

Zur genauen Untersuchung dieser Erscheinung wurden die von den Wieland-Werken in Verkehr gebrachten Reinaluminium- und Hydronalium-Eichelektroden angewendet. Der Zink- und der Magnesiumgehalt dieser Proben sind in Tabelle 1 angegeben. In der letzten Zeile dieser Tabelle sind die Durchschnittswerte der Magnesiumgehalte der ersten drei bzw. der weiteren je zwei Proben angeführt. Die mit Hilfe dieser Proben aus parallelen Messungen erhaltenen Kurven sind in Abb. 1 dargestellt. Angaben über Anregung, Optik, Photographie und Auswertung finden sich in Tabelle 2. Aus Abb. 1 geht hervor, daß die Kurven mit der Zunahme des Magnesiumgehaltes eine parallele Verschiebung nach links erfahren, das heißt der

zum gleichen Zinkgehalt gehörige ΔY-Wert nimmt mit steigendem Magnesiumgehalt zu. Es ist auffallend, daß die Zunahme des ΔY-Wertes vom Zinkgehalt unabhängig und nur die Funktion des Magnesiumgehaltes ist.

Tabelle 1. Zink- und Magnesiumgehalt der Eichelektroden

Probe	313 P	313 Q	313 R	97 T	170 S	97 U	170 T	170 U	134 T
% Zn	0,04	0,13	0,21	0,20	0,55	0,10	0,22	0,08	0,29
% Mg	0,11	0,05	0,01	3,43	3,83	4,56	4,74	6,40	6,82
Durchschnittswert % Mg		0,06			3,63		4,65		6,61

Tabelle 2. Arbeitsbedingungen

Anregungsbedingungen	Apparate	Niederspannungsfunkenerzeuger[3]
	Spitzenspannung	500 V
	Kapazität	2,5 μF
	Selbstinduktion	1 mH
	Zahl der Hauptentladungen	100/sec
	Vorfunkzeit	0
	Belichtungszeit	1 Minute
Elektroden	-Form	N 6 F 3
	-Abstand	2 mm
Optische und photographische Bedingungen	Apparate	Zeiss Q 24
	Spaltbreite	20 μ
	Abbildung	Zwischenabbildung
	Spektralplatte	Agfa-Spektral, blau, extrahart
	Entwicklungsbedingungen	Kodak D 19, 18° C, 4 Minuten
Auswertungsbedingungen	Photometer	Zeiss-Schnellphotometer
	Vergrößerung	30×
	Spaltbreite	400 μ
	Linienpaar	Zn 3345,0/Al 3064,3

Die an der Auswertungskurve ablesbaren fixierten Konzentrationswerte c_0 und c_m sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Die letzte Kolonne der

Tabelle 3. Fixpunkte und Steilheit der Auswertungskurven

Mg %	c_0 %	c_m %	c_0/c_m
0,06	0,54	0,33	1,64
3,63	0,38	0,23	1,65
4,65	0,32	0,19	1,68
6,61	0,26	0,16	1,63

Tabelle 3 enthält die Werte c_0/c_m, welche die Steilheit der Kurven charakterisieren. Diese Daten beweisen die Parallelverschiebung der Auswertungskurven. Werden die zu den magnesiumhaltigen und zu den praktisch magnesiumfreien Proben gehörigen Verhältnisse der Werte c_0 als Funktion des Magnesiumgehaltes graphisch dargestellt, so erhält man die Kurve der Abb. 2. Die Auswertung wird nach der Kurve der magnesiumfreien Proben durchgeführt. Die so erhaltenen Ergebnisse werden mit dem entsprechenden Faktor korrigiert.

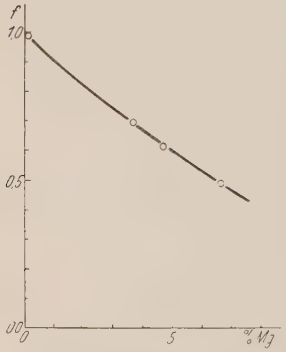


Abb. 2. Zusammenhang zwischen Korrektionsfaktor und Magnesiumgehalt

Es wurden nach diesem einfachen Verfahren Zinkgehalte verschiedener, aus der Tschechoslowakei stammender Eichproben bestimmt*. Die diesbezüglichen Daten sind der Tabelle 4 zu entnehmen und zeigen, daß die Durchschnittswerte zweier paralleler Bestimmungen mit den Ergebnissen der chemischen Analyse gut übereinstimmen. Die Ursache des in jedem Falle positiven Fehlers ist uns unbekannt.

Zur Erklärung des Einflusses eines dritten Elementes kann man in der Literatur nur wenige Hinweise finden[1,2]. Wir konnten damit den oben erwähnten Effekt nicht erklären und haben daher zu diesem Zweck besondere Experimente angestellt. Es wurde zuerst der Einfluß des dritten Legierungsbestandteiles auf die Intensität des Analysenlinienpaares untersucht. Die diesbezüglichen, als Durchschnitt je dreier Parallelmessungen erhaltenen Werte sind in Tabelle 5 unter der Bezeichnung „Elektrodenpaar" angegeben. Sie zeigen, daß zwar die Intensität der Zinklinie etwas abnimmt, der Grund der deutlichen Zu-

Tabelle 4. Vergleich der spektroskopischen und chemischen Ergebnisse

Probe	Mg %	Chem. %	Spektr. %	Abweichung %
441_A	3,23	0,61	0,65	+ 6,6
441_B	4,62	0,29	0,30	+ 3,5
441_C	4,75	0,14	0,145	+ 3,6
441_D	1,59	0,011	0,015	+ 3,6
441_F	7,73	0,07	0,074	+ 5,7
441_G	5,77	0,123	0,123	± 0,0

* Wir danken Herrn Ing. *Spalenka* auch hier für die Überlassung von Eichproben.

Tabelle 5. Änderung der Intensität der Linien

Zn %	Mg %	Elektrodenpaar			Beschlag		
		Y_{Zn}	Y_{Al}	ΔY	Y_{Zn}	Y_{Al}	ΔY
0,21	0,01	+ 0,25	+ 0,75	— 0,50	+ 0,20	+ 0,13	+ 0,07
0,22	4,74	+ 0,24	+ 0,44	— 0,20	+ 0,13	— 0,07	+ 0,20

nahme von ΔY aber in der starken Abnahme der Linienintensität des Aluminiums gelegen ist.

Die Intensitätsabnahme der Linien kann zwei Gründe haben: einerseits die Verminderung der Menge der verdampfenden Komponente, anderseits die Zurückdrängung der Anregung der Dämpfe. Der zweite Grund kann nach den Daten des Ionisationspotentials (s. Tabelle 6) eine Rolle spielen,

Tabelle 6. Ionisationspotentiale, Schmelz- und Siedepunkte

Element	Ionenpotential eV	Fp. C°	Kp. C°
Al	5,98	658	2500
Mg	7,64	657	1102
Zn	9,40	419	906
Si	8,49	1414	2630
Cu	7,74	1084	2595
Cd	8,99	303	765

er erklärt aber keinesfalls die Intensitätsabnahme der Aluminiumlinie. Die starke Änderung von ΔY wäre durch die Änderung der Anregungsbedingungen im Dampfraum auch sonst nicht zu erklären. Die zur Zink- und Aluminiumlinie gehörigen Anregungspotentialwerte sind nämlich praktisch dieselben (Zn 3345,0 Å, 7,78 eV; Al 3064,3 Å, 7,65 eV). Nach unseren Messungen wird der Entladungscharakter andernfalls in Gegenwart von Magnesium etwas bogenförmiger. So könnte man — im Gegensatz zu den experimentellen Ergebnissen — mit einer Verminderung von ΔY rechnen. Die Erscheinung kann also wohl vor allem mit der Verminderung der verdampfenden Aluminiummenge erklärt werden.

Zur Untersuchung der Verdampfungsumstände wurde folgender Versuch ausgeführt. Gegen eine gebräuchliche Aluminiumelektrode wurde eine spektralreine Kohleelektrode gestellt (s. Abb. 3). Sechs Kohleelektroden wurden in dieser Weise 5 Minuten lang gegen eine Aluminiumelektrode abgefunkt. Nachher wurden diese Kohleelektroden paarweise mit einer Funkenstrecke von 2 mm einander gegenübergestellt und ohne Vorfunken 1 Minute lang abgefunkt. So wurden drei Parallelaufnahmen angefertigt. Die mit praktisch magnesiumfreien und mit

magnesiumhaltigen Legierungen erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 5 unter der Bezeichnung „Beschlag" angegeben und zeigen, daß bei Gegenwart von Magnesium etwas weniger Zink und viel weniger Aluminium verdampft als sonst. Die hinsichtlich des Aluminiums erhaltenen spektrographischen Ergebnisse wurden auch chemisch nachgeprüft. Der Beschlag wurde in einem die Elektroden umgebenden Glasrohr vom Durchmesser 8 mm hergestellt. Es war auffallend, daß die Menge des Beschlages in Gegenwart des dritten Elementes augenscheinlich geringer war. Nach Aufschließen mit Pyrosulfat wurde die Menge des Aluminiums mit Hilfe der Hydroxychinolinmethode spektrophotometrisch bestimmt. Es wurden hierbei im ersten Fall 344 μg, im zweiten 230 μg gefunden. Diese Ergebnisse stimmen mit den Daten des Beschlages der Tabelle 5 befriedigend überein. Delogarithmieren des entsprechenden ΔY-Wertes (0,20) ergibt 1,58, das chemisch gefundene Verhältnis der Mengen jedoch 1,50.

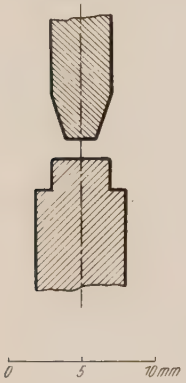


Abb. 3.
Die zur Untersuchung der Verdampfungsumstände des Aluminiums angewendete Elektrodenanordnung

Der Grund der veränderten Verdampfung ist unserer Meinung nach der Umstand, daß das Magnesium einen viel niedrigeren Siedepunkt hat als das Aluminium (s. Tabelle 6). In Gegenwart eines dritten Legierungsbestandteiles von niedrigerem Siedepunkt sinkt nämlich die Durchschnittstemperatur der Metallschmelze im Funkenkrater ab. Man muß vor dem Erreichen des Siedepunktes des Aluminiums die zur Verdampfung des Magnesiums notwendige Wärmeenergie der Legierung zuführen. Ihr Wert ergibt sich aus dem Schmelzpunkt zu 2,16 cal/mg. Erst nachher kann das Verdampfen des Aluminiums folgen. Hierzu ist (ebenfalls aus dem Schmelzpunkt errechnet) eine Energie von 2,42 cal/mg notwendig. Es ist also verständlich, daß bei derselben Anregungsenergie in Gegenwart von Magnesium viel weniger Aluminium verdampft als sonst. Die Menge des verdampfenden Zinks verändert sich dagegen praktisch nicht, da sein Siedepunkt niedriger ist als der des Magnesiums. Da das Zink nur in geringer Menge vorhanden ist, spielt die zu seiner Verdampfung notwendige Energie in der Energiebilanz des ganzen Systems eine unbedeutende Rolle.

Zur Prüfung der Richtigkeit unserer Annahme haben wir den Einfluß von Silicium, Kupfer und Cadmium als dritte Legierungsbestandteile untersucht. Nach den Daten der Tabelle 7 wurde nur im Falle des Cadmiums ein Effekt beobachtet. Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich, ist der Siedepunkt des Cadmiums im Gegensatz zu dem des Siliciums und des Kupfers im Verhältnis zu dem des Aluminiums sehr niedrig.

Die Verschiebung der Kurven ist auch im Falle des Cadmiums parallel. Bei gleicher Cadmium- und Magnesiumkonzentration ist der Effekt im ersten Fall größer. Der Grund hierfür liegt im niedrigeren Siedepunkt des Cadmiums im Vergleich zu Magnesium.

Tabelle 7. Fixpunkte und Steilheit der Auswertungskurven im Falle verschiedener Störungselemente

Störelement	Prozentgehalt	c_0 %	cm %	c_0/c_m
—	—	0,54	0,33	1,64
Si	2,90—11,30	0,56	0,30	1,86
Cu	1,24— 4,33	0,54	0,33	1,64
Cd	0,30	0,54	0,33	1,64
	2,80	0,31	0,19	1,63

Trotz der obigen Darlegungen muß aber auch festgestellt werden, daß der Einfluß des dritten Elementes keinesfalls bloß mit den Siedepunkten erklärt werden kann. Es ist aber zweifellos, daß in den besprochenen Fällen die Siedepunkte eine entscheidende Rolle spielen. Mit der weiteren Entwicklung dieser Theorie wollen wir uns künftig noch befassen.

Wir danken Frau Dr. *É. Grusz* für die chemische Bestimmung der Aluminiumgehalte des Beschlages und für die chemische Analyse der Silicium- und Kupfergehalte der hergestellten Elektroden. Ebenso danken wir Herrn Dr. *I. Bozsai* für die chemische Bestimmung der Zinkkonzentrationen der Proben.

Zusammenfassung

Die Anwesenheit von Magnesium als dritter Legierungsbestandteil führt zu einer Parallelverschiebung der Auswertungskurve. Dieser Effekt kann in der Betriebsanalyse mit Hilfe eines empirischen Faktors eliminiert werden. Seine Ursache liegt darin, daß bei Gegenwart von Magnesium weniger Aluminium verdampft als sonst. Dies wird durch den relativ niedrigen Siedepunkt des Störelementes verursacht. Dieser Einfluß eines dritten Legierungsbestandteiles ist auch im Falle des Cadmiums wahrnehmbar, im Falle des Siliciums und Kupfers jedoch nicht.

Summary

The presence of magnesium as third alloying component leads to a parallel shifting of the assay curve. This effect can be eliminated in work analyses with the aid of an empirical factor. Its cause resides in the fact that less aluminium volatilizes than usual in the presence of magnesium. This is due

to the relatively lower boiling point of the interfering element. This influence of a third component of an alloy is evident also in the case of cadmium, but not in the case of silicon and copper.

Résumé

La présence de magnésium comme tiers composant d'un l'alliage conduit à une translation de la courbe d'étalonnage. Cet effet peut être éliminé dans l'analyse industrielle par l'emploi d'un facteur empirique. Son origine réside dans le fait qu'en présence de magnésium, la quantité d'aluminium qui distille est moindre. C'est le point d'ébullition relativement bas de l'élément perturbateur qui en est la cause. Cette influence d'un tiers composant d'un alliage est également perceptible dans le cas du Cadmium. Elle ne l'est cependant pas dans le cas du silicium et du cuivre.

Literatur

[1] *G. Balz*, Z. Metallkunde **30**, 207 (1938).
[2] *J. van Calker*, Z. angew. Physik **4**, 210 (1952).
[3] *T. Török*, Acta Techn. Hung. **4**, 429 (1953).

Aus der ärztlichen Abteilung und dem organisch-analytischen Laboratorium der Farbenfabriken Bayer A. G., Leverkusen

Die Bestimmung kleiner Mengen aus aromatischen Isocyanaten entstandener Amine neben Isocyanaten in Luft und verdünnten Lösungen

Von

W. Pilz

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 30. November 1957)

Prinzip der Methode

Aromatische Isocyanate reagieren mit N,N′-Dimethyläthylendiamin mit hoher Reaktionsgeschwindigkeit zu Harnstoffen, die mit 1-n Salzsäure nicht mehr zu Aminen spaltbar sind. Neben den Isocyanaten anwesende aromatische Amine beteiligen sich nicht an der Reaktion und können nach dem Ansäuern in der bereits beschriebenen Weise quantitativ photometrisch bestimmt werden[1]. Der Überschuß an aliphatischem Amin stört diese Bestimmung nicht. Dasselbe Prinzip ist für Luftanalysen sowie für Analysen von verd. Lösungen verwendbar.

Reagenzien und Lösungen

Absorber D: Die käufliche, zirka 70%ige wäßrige Lösung von N,N′-Dimethyläthylendiamin wird fraktioniert und die zwischen 110° und 120° übergehende Fraktion gesondert abgenommen; 2,5 ml davon werden mit frisch dest. Dimethylformamid zu 500 ml gelöst.

Salzsäure, 1-n.

Natriumnitrit: 0,5 g $NaNO_2$ werden mit Wasser zu 100 ml gelöst.

Sulfamat: 2,5 g Ammoniumsulfamat werden mit Wasser zu 100 ml gelöst.

Kupplungslösung: 1,0 g N-Naphthyl-Äthylendiamindihydrochlorid wird mit Wasser zu 100 ml gelöst.

Arbeitsvorschriften

a) Luftanalyse

Es wird das normale Impingergerät (Mine Safety Appliances Co., Pittsburg) mit den dazugehörigen Absorptionsgefäßen (lichte Weite des Einleitungsrohres 1 mm) verwendet. Zur Analyse wird das Absorptionsfläschchen mit 10 ml Absorber *D* gefüllt. Der durchgesaugte Luftstrom darf nicht schneller als 1 l/min sein. Da die Aminkonzentration meist weit niedriger als die herrschende Isocyanatkonzentration zu erwarten ist, empfiehlt es sich, eine ausreichende Luftmenge durch das Absorptionsgefäß zu saugen.

Die Aufarbeitung kann frühestens 10 Minuten und muß spätestens 48 Stunden nach der Probenahme beginnen. Der Inhalt des Absorptionsgefäßes wird in einem 50-ml-Meßkolben gespült, nach Zusatz von 10 ml 1-n HCl in Abständen von je 10 Minuten 1 ml Nitritlösung, 2 ml Sulfamatlösung und 2 ml Kupplungslösung zugesetzt, zur Marke aufgefüllt und nach einer Stunde die Amine aus 2,4-Toluylendiisocyanat (I) mit Filter S 57, aus Phenylisocyanat (II) mit Filter S 55 und aus 1,5-Naphtylendiisocyanat (III) mit Filter S 42 (Elko II) gegen Wasser gemessen. Das Resultat kann mit den bereits mitgeteilten Berechnungsfaktoren[1] aus den Extinktionen errechnet werden (Resultat: Amine, als Isocyanate).

b) Analyse verd. Isocyanatlösungen in mit Wasser mischbaren Lösungsmitteln

Eine gemessene Menge der zu analysierenden Lösung wird in einen mit 10 ml Absorber *D* beschickten Meßkolben gefügt, 10 Minuten unter gelegentlichem Umschütteln stehengelassen, mit 10 ml 1-n HCl angesäuert und wie unter a) beschrieben, aufgearbeitet.

Es ist erforderlich, denselben Versuch mit einer Aminlösung in Wasser, deren Gehalt bekannt ist, unter Zusatz der entsprechenden Menge reinen Lösungsmittels einmal durchzuführen, um festzustellen, ob und wie groß der Einfluß des Lösungsmittels auf die Extinktion ist. Ein damit bestimmter etwaiger Korrekturfaktor ist bei der Berechnung des Resultates zu berücksichtigen.

Diskussion

Zur Prüfung der Absorptionslösung wurde von einer frisch bereiteten Lösung von (I) in trockenem Aceton jeweils 5 ml in einen 50-ml-Meßkolben mit 10 ml Absorptionslösung gebracht, 10 Minuten stehengelassen und wie beschrieben aufgearbeitet. Zur Kontrolle des Isocyanatgehaltes der acetonischen Lösung wurden auch dreimal je 5 ml der Lösung von (I) in einer Mischung von Dimethylformamid : 1-n HCl = 1 : 1 in der vorgeschriebenen Weise verseift[1]. Die photometrischen Messungen der Ansätze brachten folgende Ergebnisse:

Extinktionseinheiten	
Isocyanate (sauer verseift)	Absorber *D*
0,825	0,004
0,822	0,006
0,826	0,003

Hieraus ergibt sich für die Isocyanatkonzentration der Meßlösung 9,38 μg/ml. Es stellte sich heraus, daß bei Anwesenheit des Absorbers *D* praktisch alle Isocyanate so blockiert sind, daß sie unter den gegebenen Bedingungen keinen Farbstoff ergeben. Die Extinktionswerte von im Mittel 0,004 erwiesen sich später als Folge geringer Verunreinigungen und konnten eliminiert werden.

Dieselbe Prüfung wurde mit Phenylisocyanat und 1,5-Naphthylendiisocyanat durchgeführt. Da die gleichen Effekte erzielt wurden, kann hier auf eine gesonderte Wiedergabe der einzelnen Werte verzichtet werden.

Wird der Absorber *D* vorher mit der gleichen Menge 1-n Salzsäure angesäuert, ist er wirkungslos: die zugesetzten Isocyanatmengen werden quantitativ zu den entsprechenden Aminen verseift und als solche bestimmt.

Bei einer quantitativen Bestimmung der aus aromatischen Isocyanaten stammenden Amine mußte noch untersucht werden, ob unter den gegebenen Bedingungen nicht auch aromatische Amine mit Isocyanaten reagieren und somit ein Aminverlust auftritt. Diese Prüfung wurde in folgender Weise vorgenommen:

Eine Lösung von 2,4-Toluylendiamin (Merck) sowie eine frisch bereitete Lösung von 2,4-Toluylendiisocyanat, beide in trockenem Aceton, wurden jeweils 10 Minuten lang mit 10 ml Absorber *D* zusammengebracht und dann nach Arbeitsvorschrift bestimmt, wobei folgende Resultate erhalten wurden (Tabelle 1).

Tabelle 1. Prüfung der Reaktionsbereitschaft aromatischer Isocyanate mit aromatischen Aminen in Gegenwart aliphatischer Amine im Überschuß

Extinktionseinheiten		
Absorber *D* + 5 ml Tolaminlösung	5 ml Isocyanatlösung sauer verseift*	Absorber *D* + 5 ml Tolaminlösung + 5 ml Isocyanatlösung
0,252	0,372	0,254
0,253	0,370	0,256
0,250	0,375	0,252
0,252	0,373	0,250

* Verseifungsdauer 1 Stunde.

Gleichzeitig wurde der gleiche Versuch mit Absorber *D*, der vorher mit 10 ml 1-n HCl angesäuert worden war, durchgeführt, wobei die

Reaktionszeit auf 1 Stunde ausgedehnt wurde. Es wurden folgende Resultate erhalten:

Ansatz: 10 ml Absorber *D* + 10 ml 1-n HCl + 5 ml Isocyanatlösung + 5 ml Tolaminlösung.

Extinktionseinheiten: 0,628, 0,620, 0,625, 0,626.

Ebensolche Versuche wurden mit Phenylisocyanat (und Anilin) sowie mit (III) (und 1,5-Naphthylendiamin) durchgeführt, wobei dieselben Ergebnisse resultierten.

Daraus geht hervor, daß in Gegenwart von Absorber *D* aromatische Isocyanate nicht mit aromatischen Aminen reagieren, sofern ein genügender Überschuß an Absorber *D* anwesend ist. In saurer Lösung tritt Verseifung der Isocyanate zu Aminen ein, eine Reaktion von Isocyanaten findet in saurer Lösung weder mit aromatischen noch mit aliphatischen Aminen statt.

Die Reaktionsgeschwindigkeit aromatischer Isocyanate in den zur photometrischen Bestimmung brauchbaren Konzentrationen mit dem Absorber *D* ist zur analytischen Verwendung genügend groß, bei allen untersuchten Isocyanaten war die Reaktion schon nach 3 Minuten quantitativ verlaufen. Aus Sicherheitsgründen wurde jedoch für die praktische Analyse eine Wartezeit von 10 Minuten vorgeschrieben; die Resultate waren auch bei Ausdehnung der Reaktionszeit auf 48 Stunden noch unverändert.

Zur Untersuchung der Absorptionsverhältnisse wurden zunächst 100 l Luft, die vorher ein Kohlefilter passierten, durch 10 ml Absorber *D* geleitet und dieser nachher auf seine Wirksamkeit geprüft. Es war keinerlei Veränderung in der Reaktionsbereitschaft gegenüber Isocyanaten feststellbar.

Schließlich wurde eine Tolaminlösung in Aceton in einem geschlossenen Raum versprüht; zur Analyse wurden drei Absorptionsröhrchen hintereinander geschaltet, von denen die beiden ersten mit je 10 ml Absorber *D*. das dritte aber mit 10 ml 1-n HCl gefüllt war. Die Hauptmenge der absorbierten Amine war stets im ersten Röhrchen enthalten, während je nach Strömungsgeschwindigkeit geringe Mengen auch im zweiten, nie aber im dritten Absorptionsröhrchen gefunden wurden. Es stellte sich heraus, daß bei einer Strömungsgeschwindigkeit von weniger als 1,6 l/min quantitative Absorption bereits im ersten Gefäß erfolgt. Aus Sicherheitsgründen wurde für die praktische Analyse eine maximale Strömungsgeschwindigkeit von 1 l/min festgesetzt.

Ergebnisse

a) Luftanalysen

Zur praktischen Erprobung der Methode wurde in einem 19,78 m^3 großen Raum eine möglichst hohe Konzentration an (I) durch Versprühen

der Substanz hergestellt. Vorher wurde eine größere Menge Wasser versprüht, um die Wasserdampfkonzentration möglichst hoch zu halten: die Temperatur betrug während der ganzen Versuchsdauer 25 ± 1°. In diesem Raum, der nur eine Tür besitzt, wurde die Ventilation abgeschaltet, so daß ein Austausch mit der Außenluft nur eintreten konnte, wenn die Tür geöffnet wurde, was nur bei den stündlich durchgeführten

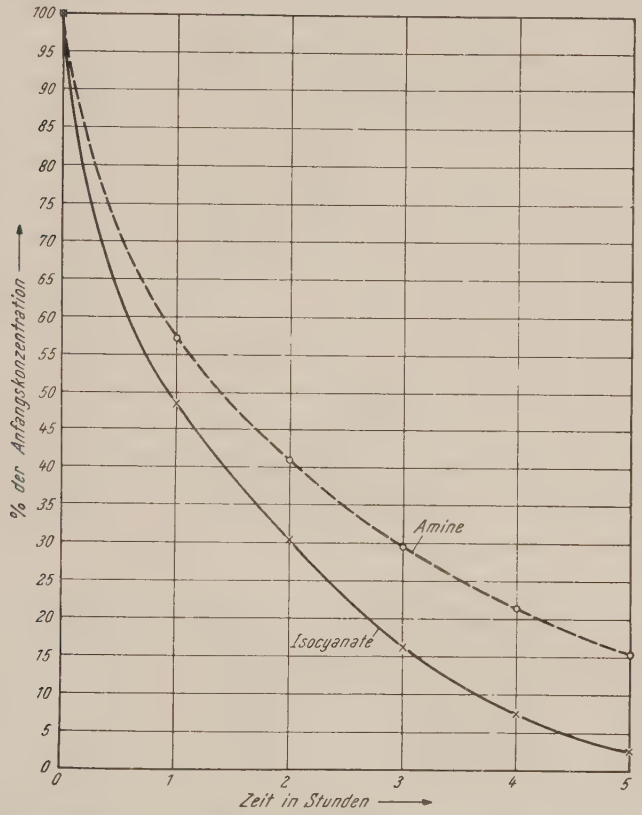


Abb. 1. Abnahme der Konzentration an Isocyanaten und Aminen in feuchter Luft

Probenahmen geschah. Die Anfangskonzentration wurde 20 Minuten nach Beendigung des Versprühens festgestellt, die weiteren Proben jeweils in Abständen von 1 Stunde. Die gemessenen Werte sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Es ist ersichtlich, daß der Gehalt an Isocyanaten schneller abnimmt als der Gehalt an Aminen. Gemessen an dem der Isocyanate steigt dieser ständig an; nach 5 Stunden Versuchsdauer liegt die Verteilung bei 73,5% Isocyanaten und 26,5% Aminen, ein Befund, aus dem Rück-

schlüsse für die Praxis gezogen werden können. Jedenfalls ist die Reaktionsbereitschaft zwischen aromatischen Isocyanaten und aromatischen Aminen keineswegs so groß, wie anzunehmen war; das gilt allerdings nur für stark verd. Systeme, so auch für stark verd. Lösungen, wie zu zeigen ist.

Tabelle 2. Abnahme der Konzentration an Isocyanaten und Aminen in feuchter Luft

Zeit Stunden	Isocyanate p. p. m.	Anfangskonz. %	Amine p. p. m.	Anfangskonz. %	Isocyanate %*	Amine %*
0	8,67	100	0,49	100	94,6	5,4
1	4,22	48,6	0,28	57,2	93,8	6,2
2	2,65	30,6	0,20	40,8	93,0	7,0
3	1,40	16,15	0,145	29,6	90,3	9,7
4	0,672	7,7	0,105	21,4	86,5	13,5
5	0,210	2,4	0,076	15,5	73,5	26,5

* Isocyanate (p. p. m.) + Amine (p. p. m.) = 100%. Vgl. dazu Abb. 1.

b) Verd. Lösungen

Es wurden folgende drei Lösungen von (I) hergestellt:

A: Aceton, Wassergehalt 0,43%, Konzentration an Isocyanaten: 0,00123-m.

B: Äthylenglykolmonomethylätheracetat, Wassergehalt 0,05%, Konzentration an Isocyanat: 0,00119-m.

Tabelle 3. Gehalt verd. Isocyanatlösungen an Aminen, ausgedrückt in Prozent der Anfangskonzentration an Isocyanaten

Zeit Stunden	Lösung A % Amine	Lösung B % Amine	Lösung C % Amine
0,16	0	0	47,5
1	0,9	2,5	70,9
2	1,4	3,4	71,0
3	1,75	4,2	70,8
4	2,35	5,22	70,3
5	2,71	6,2	70,3
6	3,03	7,06	70,3
8	3,95	8,34	70,4
10	4,80	9,35	70,3
14	6,50	11,32	70,4
18	7,93	12,80	70,4
22	9,00	14,25	70,3
24	9,55	14,75	70,3
30	10,30	15,80	70,3
36	10,45	16,60	70,3

C: Dimethylformamid, Wassergehalt 1,2%, Konzentration an Isocyanat: 0,000775-m.

Die Wassergehalte wurden nach *K. Fischer* bestimmt.

Nach der mitgeteilten Analysenvorschrift wurde der Gehalt an Aminen und seine zeitliche Veränderung gemessen. Die Ergebnisse

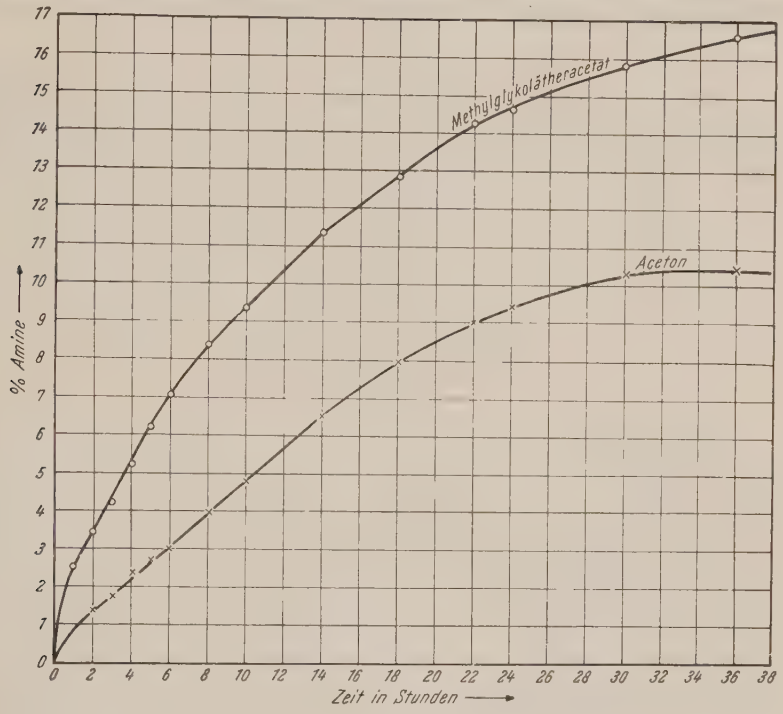


Abb. 2. Freie aromatische Amine in Isocyanatlösungen in Abhängigkeit von der Zeit

sind in % Amine (als Isocyanate) des Anfangsgehaltes an Isocyanaten angegeben (Tabelle 3). Die Resultate sind in Abb. 2 wiedergegeben.

Diese Befunde machen ebenfalls deutlich, daß aromatische Isocyanate in verd. Systemen neben aromatischen Aminen bestehen können, ohne daß Reaktion zwischen den beiden Partnern eintritt.

Zusammenfassung

Aromatische Isocyanate reagieren mit sekundären aliphatischen Aminen in Dimethylformamid quantitativ zu Harnstoffen, während eine Reaktion mit aromatischen Aminen nicht eintritt, solange ein Überschuß an aliphatischer Base anwesend ist. In mineralsaurer Lösung findet weder Reaktion mit aromatischen noch mit aliphatischen Aminen statt, sondern es tritt quantitative Verseifung zu den entsprechenden

Aminen ein. In feuchter Luft sind aromatische Isocyanate neben den aus ihnen entstandenen Aminen beständig. Ebenso können in verd. Lösungen (Konzentration etwa 0,001-m) von aromatischen Isocyanaten in organischen Lösungsmitteln die entsprechenden Amine bestehen, ohne mit den Isocyanaten zu reagieren. Für beide Fälle werden Beispiele gebracht. Analysenvorschriften werden mitgeteilt.

Summary

Aromatic isocyanates react quantitatively with secondary aliphatic amines in dimethylformamide to yield ureas, whereas there is no reaction with aromatic amines provided an excess of aliphatic base is present. In mineral acid solution there is no reaction with either aromatic or aliphatic amines, but instead there is quantitative saponification to the corresponding amines. In moist air aromatic isocyanates are stable in the presence of the amines they have yielded. Likewise, the corresponding amines can exist, without reacting with the isocyanates, in dilute solutions (concentration around 0.001 *M*) of aromatic isocyanates in organic solvents. Instances are given for both cases. Analytical procedures are provided.

Résumé

Les isocyanates aromatiques réagissent sur les amines aliphatiques secondaires, dans la diméthylformamide, en donnant quantitativement naissance à des urées; il ne se produit aucune réaction avec les amines aromatiques tant que la base aliphatique reste en excès. Dans les solutions d'acides minéraux, il ne se produit aucune réaction ni avec les amines aromatiques, ni avec les amines aliphatiques, mais il se produit une saponification quantitative avec formation des amines correspondantes. Les isocyanates aromatiques restent stables dans l'air humide en présence des amines auxquelles ils ont donné naissance. De même, en solution diluée (de concentration environ 0,001 m) d'isocyanates aromatiques dans des solvants organiques, les amines correspondantes peuvent subsister sans réagir sur les isocyanates. Dans les deux cas, l'auteur cite des exemples. Description du mode opératoire.

Literatur

[1] *W. Pilz*, Arbeitsschutz **1957**, 7.

Department of Chemistry, Faculty of Science, Osaka University, Osaka, Japan

Another New Application of Standard-Addition Technique in Flame Spectrophotometry

By

Shouzow Fukushima, Kiyoshi Yukawa, Misako Shigemoto, and Kiyoteru Otozai

With 8 Figures

(Received December 2, 1957)

I. Introduction

The purpose of our research, as already mentioned in preceding papers[1,2], is to devise an independent flame-photometric method of determination which is free from interference by concomitants.

In our study, terms, "*specified*" *C–I curve*, "*concomitant*" *C–I curve*, *additive interference*, and *multiplicative interference* have been used with definitions as follows[1]:

The "*specified*" *C–I curve* is the curve constructed by plotting each standardized intensity, I, against the corresponding concentration of specified substance, C, for a series of solutions containing specified substance only. (The *specified substance* is the substance that is to be determined.)

The "*concomitant*" *C–I curve* is the curve constructed by plotting each standardized intensity, I, against the corresponding concentration of specified substance, C, for a series of solutions containing concomitants also at a constant concentration. In this series of solutions, the concentration of specified substance is varied but those of concomitants are kept constant. Here, what is meant by *concomitants* is all constituents of a solution other than solvent and specified substance.

Interference of concomitants is the deviation of a "concomitant" *C–I* curve from the "specified" *C–I* curve for one and the same specified substance and measured with the same instrumental conditions.

In the case of *additive interference*, the radiation from the specified substance is intensified by the overlapping radiation from the concomitants.

In the case of *multiplicative interference*, the radiation emitter at the chosen wavelength is the specified substance only and no radiation emitted from concomitant enters into the detector, but the radiation from the specified substance is intensified or weakened through the physico-chemical interaction of concomitant.

When the interferences of various sorts of concomitants with Li, Na, K, Rb, Cs, Ca, Ba radiation were comprehensively surveyed, the multiplicative interferences, so far as investigated, in all the cases where anyone of Li, Na, K and Rb was the specified element, were found to obey a rule, named the *rule of log – log translation*, owing to the graphical correlation between the "specified" and "concomitant" C–I curves on the $\log C - \log I$ plane. The rule can be formulated as follows:

With given conditions, e. g., nature of specified substance, solvent, wavelength, and other instrumental settings, the "specified" C–I function being

$$I = f_{(C)},$$

a given "concomitant" C–I function should be expressed in a form

$$I^* = n \cdot f_{(m \cdot C)}$$

where m, and n are constants called *concentration coefficient* and *intensity coefficient of an interference*, respectively. When a concomitant is included, an asterisk is attached to I in order to indicate the possible interference.

In some special cases with multiplicative interference, the concentration coefficient, m, or intensity coefficient, n, can be set at 1.0. When $n = 1.0$, an accurate determination can be achieved by using the *concentration coefficient method*[2] and a multiplicative interference of such a special type may not affect the result. When $m = 1.0$, alternatively, the *intensity coefficient method*[2] can be applied and the result may be accurate without systematic error due to interference.

In this paper, a more general method, named "the Double Coefficient Method" is proposed. This method is based on the standard-addition technique and may be generally applied to cases with multiplicative interferences of the type of $I^* = n \cdot f_{(m \cdot C)}$, where m and n can have any value and need not be known beforehand.

II. Principle of Double-Coefficient Method

Suppose solutions A, B, C, to be as follows:

Solution A is the *basic sample solution* which contains a specified substance with concentration x (unknown), and possibly an interfering concomitant with unknown concentration.

Solution B is the *added standard sample solution* which contains the specified substance with concentration $(x + \delta_1)$, (δ_1 being the known

increment in concentration of the specified substance due to standard addition) and the interfering concomitant, whose concentration is unknown but is kept the same as that of solution A.

Solution C is also the added standard sample solution identical with solution B except that the concentration of the specified substance is $(x + \delta_2)$.

Assume that intensity of each solution obtained with a definite instrumental condition is I_x^*, $I_{x+\delta_1}^*$, $I_{x+\delta_2}^*$, respectively, and points P (log x, log I_x^*), Q (log $\overline{x + \delta_1}$, log $I_{x+\delta_1}^*$), R (log $\overline{x + \delta_2}$, log $I_{x+\delta_2}^*$) are *assumed* to be plotted on log C – log I plane (cf. Fig. 3). Here, it should be noted that P, Q, R are the points of a "concomitant" log C – log I curve. Then the log – log translation rule will assure that these points could be superimposed on the "specified" log C – log I curve by an *appropriate translation.* It would however be a problem to find the appropriate translation, because log x, log $(x + \delta_1)$, and log $(x + \delta_2)$ cannot be plotted without knowing the value of x; moreover, neither the positions of points P, Q, R on the "concomitant" log C – log I curve, nor even the mutual geometrical relation between them can be known.

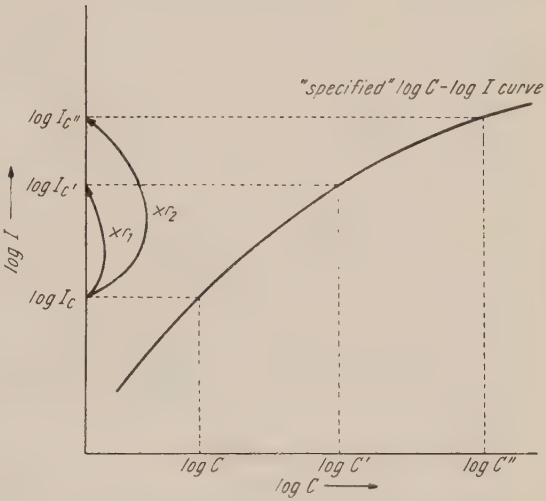


Fig. 1. Relation between C, C' and C'', where $I_{C'} = r_1 \cdot I_C$ and $I_{C''} = r_2 \cdot I_C$

It may be assumed that the appropriate translation is achieved when point P (log x, log I_x^*) is superposed on point P_0 (log C_0, log I_{C_0}) on the "specified" C–I curve. The problem is therefore reduced to finding the point P_0 on the "specified" C–I curve or finding the value C_0.

Setting r_1 and r_2 as

$$\frac{I_{x+\delta_1}^*}{I_x^*} = r_1, \qquad (1)$$

$$\frac{I_{x+\delta_2}^*}{I_x^*} = r_2 \qquad (2)$$

new quantities, C', C'', $P_{1(C)}$, $P_{2(C)}$, are defined for all C values, with reference to the "specified" C–I curve, as follows:

$$I_{C'} = r_1 \cdot I_C, \quad (3)$$

$$I_{C''} = r_2 \cdot I_C, \quad (4)$$

$$\frac{C'}{C} - 1 = P_{1(C)}, \quad (5)$$

$$\frac{C''}{C} - 1 = P_{2(C)}. \quad (6)$$

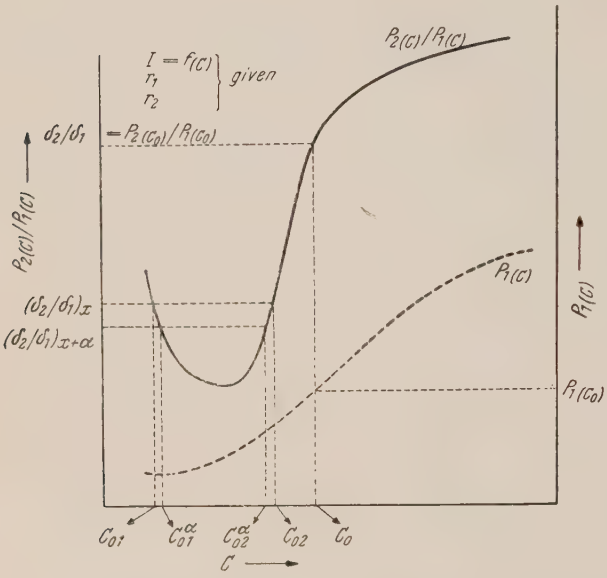


Fig. 2. Schematic representation of $C - P_{1(C)}$ and $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$. Relations for a given set of r_1, r_2 and for a certain $I = f_{(C)}$

From equations (1) and (2), it is obvious that r_1 or r_2 has the meaning of the relative increase in intensity of sample solution due to the standard addition δ_1 and δ_2, respectively. Mutual relations among C, C', and C'', may be understood by the schematic illustration in Fig. 1. The physical meaning of $P_{1(C)}$ or $P_{2(C)}$ may not be clear, but their convenience is described below.

It is important to note that a set of C', C'', $P_{1(C)}$, and $P_{2(C)}$ should be given, when C is once specified; those are the functions of C which are now used as argument.

Properties of Ratio $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ when $C = C_0$

As $P_{1(C)}$ and $P_{2(C)}$ are functions of C, the ratio $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ should also be a function of C; therefore the relation between C and $P_{1(C)}$ or C and $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ can be represented for a given set of r_1, r_2 in a graphical form as in Fig. 2 (which is only schematic).

When the values of C' and C'' at $C = C_0$ are designated by C_0' and C_0'', and corresponding intensities by $I_{c_0'}$, and $I_{c_0''}$ respectively, the points P_0 (log C_0, log I_{c_0}), Q_0 (log C_0', log $I_{c_0'}$), R_0 (log C_0'', log $I_{c_0''}$) should be the points of the "specified" log C – log I curve which would be superimposed on the points P, Q, R of the "concomitant" log C – log I curve. Then from the geometrical congruence of $\Delta P\,Q\,H$ with $\Delta P_0\,Q_0\,H_0$ and of $\Delta P\,R\,I$ with $\Delta P_0\,R_0\,I_0$, the following relations (7) and (8) may be derived (see Fig. 3):

$$\overline{P\,H} = \overline{P_0\,H_0} \therefore \log C_0' - \log C_0 = \log (x + \delta_1) - \log x$$
$$\therefore \frac{C_0'}{C_0} = 1 + \frac{\delta_1}{x} \tag{7}$$

likewise

$$\overline{P\,I} = \overline{P_0\,I_0} \therefore \log C_0'' - \log C_0 = \log (x + \delta_2) - \log x$$
$$\therefore \frac{C_0''}{C_0} = 1 + \frac{\delta_2}{x}. \tag{8}$$

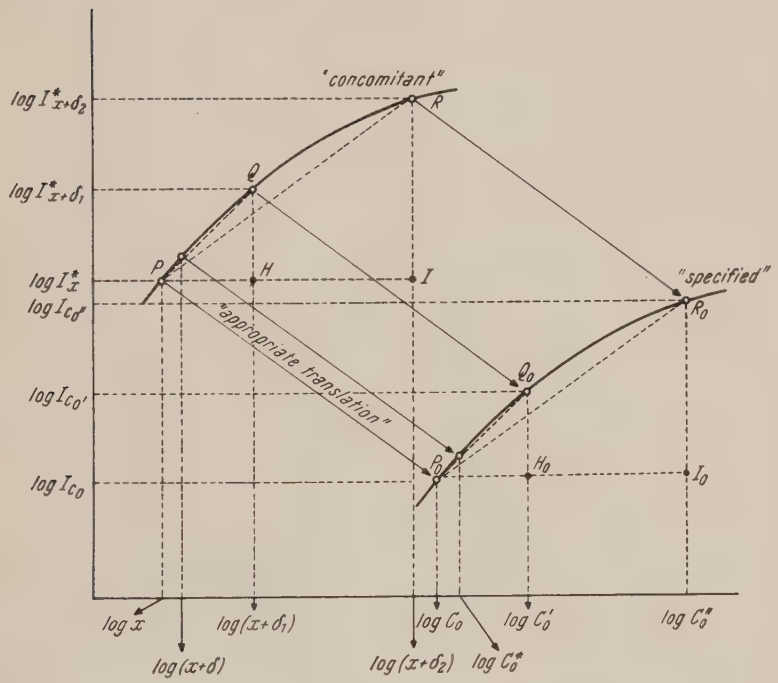


Fig. 3: Illustration of "appropriate translation" (see Text)

From (5) and (7)

$$P_{1(C_0)} = \frac{C_0'}{C_0} - 1 = \frac{\delta_1}{x} \tag{9}$$

and from (6) and (8)

$$P_{2(C_0)} = \frac{C_0''}{C_0} - 1 = \frac{\delta_2}{x} \tag{10}$$

can be derived, where, $P_{1(C_0)}$ and $P_{2(C_0)}$ are the values of $P_{1(C)}$ and $P_{2(C)}$ at $C = C_0$.

Then from (9) and (10)

$$\frac{P_{2(C_0)}}{P_{1(C_0)}} = \frac{\delta_2}{\delta_1} \tag{11}$$

and from (9)

$$x = \frac{\delta_1}{P_{1(C_0)}} \tag{12}$$

can be obtained. The most important relations for the determination of C_0 and consequently of x are (11) and (12).

Thus, C_0 and x may be found in principle by the following procedures:

1. $I_x{}^*$, $I_{x+\delta_1}^*$ and $I_{x+\delta_2}^*$ are measured for basic and added standard sample solutions, where δ_1 and δ_2 are known.

2. $r_1 = \frac{I_{x+\delta_1}^*}{I_x{}^*}$, $r_2 = \frac{I_{x+\delta_2}^*}{I_x{}^*}$ are calculated.

3. By the use of the "specified" C–I curve, $P_{1(C)}$ and $P_{2(C)}$ and $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ are calculated for many Cs.

4. Relations $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ and $C - P_{1(C)}$ are represented in graphical form as in Fig. 2.

5. Ratio δ_2/δ_1 is calculated, and according to equation (11) a suitable C_0 may be found by the help of the $C \sim P_{2(C)}/P_{1(C)}$ curve as in Fig. 2.

6. Then $P_{1(C_0)}$ may be obtained from the $C \sim P_{1(C)}$ curve, and x is calculated according to equation (12).

These procedures must be slightly modified for practical conveniences (see III).

III. Practice of Double-Coefficient Method

(a) Specifying r_1 and r_2

Among the procedures described above, procedures (3) and (4) may be the most time-consuming ones: when δ_1 and δ_2 are fixed, the ratios r_1 and r_2 observed may be different from sample to sample, and many different $C - P_{1(C)}$ and $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ curves must be constructed for every set of r_1 and r_2.

If a number of samples is treated, it is wise to fix r_1 and r_2, instead of δ_1, δ_2, and to make use of only one $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ and one $C - P_{1(C)}$ working curve. This can be done in the following way:

1. A set of r_1 and r_2 is specified, which must be naturally a reasonable one, i. e., it should not be widely different from the one really encountered. Using this set of r_1, r_2, the $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ curve and the $C - P_{1(C)}$ curve are constructed, provided the "specified" C–I curve is previously known.

2. Several standard additions Δ_1, Δ_2, Δ_3, etc. are made for a basic sample solution, and the intensity for each solution $I_x{}^*$, $I_{x+\Delta_1}^*$, $I_{x+\Delta_2}^*$, $I_{x+\Delta_3}^*$, etc. is measured.

3. Intensity ratios $r_\Delta = \frac{I_{x+\Delta}^*}{I_x{}^*}$ are calculated for each standard addition. $\log r_\Delta$ is plotted against Δ as in Fig. 4, and special values

of Δ, i. e., δ_1 and δ_2, which correspond to the specified ratios r_1, r_2, are obtained by interpolation.

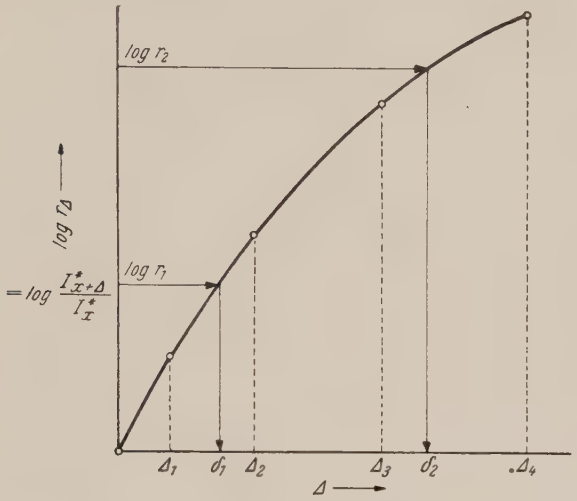


Fig. 4. Interpolation to find δ_1 and δ'_2

4. Ratio δ_2/δ_1 thus obtained is referred to the $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ curve constructed previously, and from this C_0 and consequently $P_{1(C_0)}$ are found.

(b) Use of $P_{2(C)}/P_{1(C)} - P_{1(C)}$ Curve

It may be noticed in the preceding explanation that there is no explicit use of the value of C_0 and its significance is only to correlate $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ with $P_{1(C)}$. Thus, in practice, $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ may be directly plotted against $P_{1(C)}$ as in Fig. 5, where C plays only an implicit parametric role.

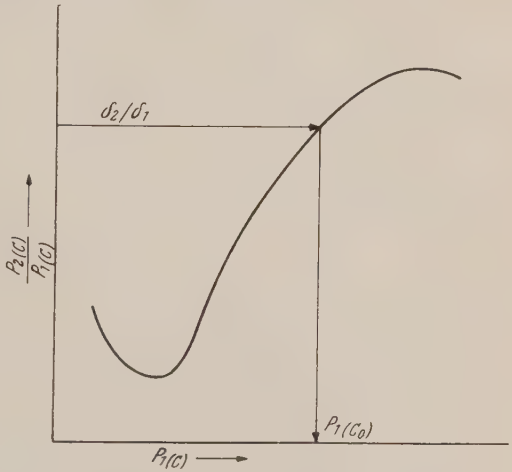


Fig. 5. $P_{1(C)} - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ working curve to find $P_{1(C_0)}$ from δ_2/δ_1

(c) Unique Selection of Suitable C_0

It may be noticed that in some cases C_0 cannot be uniquely determined by $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ working curve such as in Fig. 2.

Suppose that $(\delta_2/\delta_1)_x$ is obtained by the procedures described above for a given x, then two C_0 values (C_{01} and C_{02}) will be obtained, as is

illustrated in Fig. 2. It is then necessary to determine which one of C_{01} and C_{02} should be discarded.

In such a case, another sample which is slightly enriched with the specified substance, whose concentration may be now $(x + \alpha)$, should be treated as a new unknown sample. When the slightly different δ_2/δ_1 value, say $(\delta_2/\delta_1)_{x+\alpha}$ is applied again to the $C - P_{2(C)}/P_{1(C)}$ curve, another pair of C_0 values ($C_{01}{}^{\alpha}$ and $C_{02}{}^{\alpha}$) will be obtained. Consideration of the geometrical relation of C_0 with x, and of $C_0{}^{\alpha}$ with $(x + \alpha)$ in the

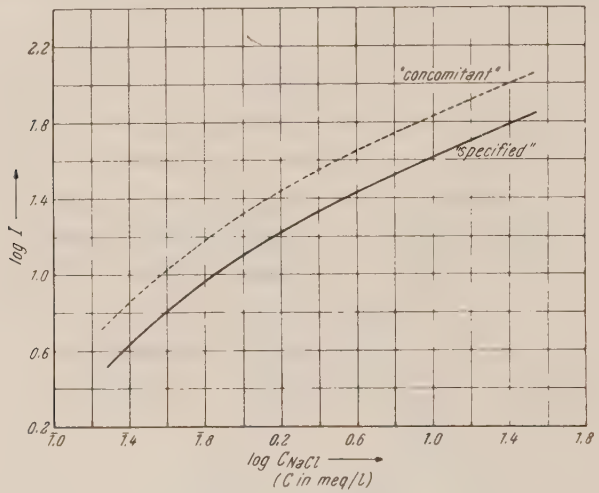


Fig. 6. "Specified" and "Concomitant" $\log C - \log I$ curves for NaCl (5% Ethanol, 3% Sucrose, 1% $BaCl_2$, 1% KCl are concomitants)

log — log translation rule (see Fig. 3) will show that $C_0{}^{\alpha}$ has to be larger than C_0, because $(x + \alpha)$ is larger than x. This can therefore be a criterion of C_0 selection.

In the example shown in Fig. 2, $C_{01}{}^{\alpha}$ is larger than C_{01}, but $C_{02}{}^{\alpha}$ is smaller than C_{02}. Then, C_{01} should be adopted and C_{02} discarded.

IV. Demonstration Experiment

In the following an experiment is described in which the Double-Coefficient Method was applied to a case where the concomitant interfered extensively with the Na radiation. Details of the new method will be fully understood from the example.

Flame-photometric measurements were made by the use of Beckman DU quartz spectrophotometer with 9200 flame attachment and 4030 acetylene-oxygen burner. Various conditions and settings used are shown in Table I.

Table I. Instrumental Conditions and Settings for Na (Beckman DU)

Gas pressures: C_2H_2: 3.5 p. s. i., O_2: 13.0 p. s. i.
Needle valve: Opened about 70° from closed limit
Wavelength: 589 mμ
Slit width: 0.05 mm
Phototube: Blue sensitive phototube
Phototube load register: 10^{10} ohms
Selector switch: ".1" position
Sensitivity knob: Clockwise limit

A mixture of 5% ethanol, 3% sucrose, 1% $BaCl_2$ and 1% KCl as experimental concomitants showed a very pronounced effect on Na—589 mμ radiation. The interference is of the multiplicative type, and is recognized to obey the log – log translation rule very well.

The "specified" and "concomitant" $\log C - \log I$ curves we obtained are illustrated in Fig. 6 and the values are given in Table II.

Table II.
Observed $\log C - \log I$ values

$\log C$ (C in meq/l)	$\log I$ (I: read on % T scale)	
	"specified"	"concomitant"
$\bar{1}.300$	0.537	0.761
$\bar{1}.500$	0.722	0.942
$\bar{1}.700$	0.890	1.107
$\bar{1}.900$	1.039	1.255
0.100	1.170	1.386
0.300	1.283	1.497
0.500	1.388	1.600
0.700	1.484	1.697
0.900	1.576	1.786
1.100	1.663	1.875
1.300	1.751	1.961
1.500	1.837	2.046

Specified Substance: NaCl.
Concomitant: A mixture of 5% ethanol, 3% sucrose, 1% $BaCl_2$ and 1% KCl.

Procedure for Double-Coefficient Method

1. First, r_1 and r_2 were specified to be 1.200 and 2.500, respectively. This pair of r-values was adopted as it has been confirmed from a wide range of experiments, a part of which will be presented later, that r_2/r_1 should be of this magnitude in order to get high accuracy.

2. $P_{1(C)}$, $P_{2(C)}$ and $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ were calculated for many Cs by using the "specified" $\log C - \log I$ curve shown in Fig. 6 or Table II. An example of the calculation is as follows:

First a value is given to C; say $C = 0.22$ meq/l, then $\log C = \bar{1}.342$. From the $\log C - \log I$ curve, $\log I_c = 0.576$ is obtained. As $I_{c'} = r_1 \cdot I_c$ (eq. 3), $\log I_{c'} = \log I_c + \log r_1$ where $\log r_1 = \log 1.200 = 0.079$, we have $\log I_{c'} = 0.576 + 0.079 = 0.655$. Then, again from the $\log C - \log I$ curve we find $\log C' = \bar{1}.427$. As $\frac{C'}{C} - 1 = P_{1(C)}$ (eq. 5), $\log \overline{P_{1(C)} + 1} =$ $= \log C' - \log C = \bar{1}.427 - \bar{1}.342 = 0.085$, then $(P_{1(C)} + 1) = 1.216$ and $P_{1(0.22)} = 0.216$ is obtained.

Table III. Example of Calculation of $P_{1(C)}$, $P_{2(C)}$ and $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ ($r_1 = 1.200$, $r_2 = 2.500$)

C (meq/l)	0.22	0.30	0.40	0.50	0.68	0.90	1.10	1.50	2.00	2.60	3.20
$\log C$	$\bar{1}.342$	$\bar{1}.477$	$\bar{1}.602$	$\bar{1}.699$	$\bar{1}.833$	$\bar{1}.954$	0.041	0.176	0.301	0.415	0.505
$\log I_c$	0.576	0.701	0.809	0.888	0.990	1.076	1.134	1.215	1.285	1.345	1.390
$\log I_{c'} = \log I_c + 0.079$	0.655	0.780	0.888	0.967	1.069	1.155	1.213	1.294	1.364	1.424	1.469
$\log C'$	$\bar{1}.427$	$\bar{1}.567$	$\bar{1}.699$	$\bar{1}.801$	$\bar{1}.943$	0.075	0.172	0.318	0.450	0.572	0.665
$\log \overline{P_{1(C)} + 1} = \log C' - \log C$	0.085	0.090	0.097	0.102	0.110	0.121	0.131	0.142	0.149	0.157	0.160
$P_{1(C)}$	0.216	0.230	0.250	0.265	0.288	0.321	0.352	0.387	0.409	0.435	0.445
$\log I_{c''} = \log I_c + 0.398$	0.974	1.099	1.207	1.286	1.388	1.474	1.532	1.613	1.683	1.743	1.788
$\log C''$	$\bar{1}.810$	$\bar{1}.988$	0.162	0.305	0.500	0.675	0.802	0.983	1.143	1.280	1.384
$\log \overline{P_{2(C)} + 1} = \log C'' - \log C$	0.468	0.511	0.560	0.606	0.667	0.721	0.761	0.807	0.842	0.865	0.879
$P_{2(C)}$	1.938	2.243	2.631	3.036	3.645	4.260	4.768	5.412	5.950	6.328	6.568
$P_{2(C)}/P_{1(C)}$	8.97	9.75	10.52	11.46	12.66	13.27	13.55	13.98	14.55	14.55	14.76

In an analogous way where r_1 is replaced by $r_2 = 2.500$ ($\log r_2 = 0.398$), $P_{2(0.22)} = 1.938$, and therefore $P_{2(0.22)}/P_{1(0.22)} = 8.972$ are obtained.

The results of these calculations are listed in Table III. A working curve (an indirect calibration curve) was prepared by plotting $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ against $P_{1(C)}$ as in Fig. 7.

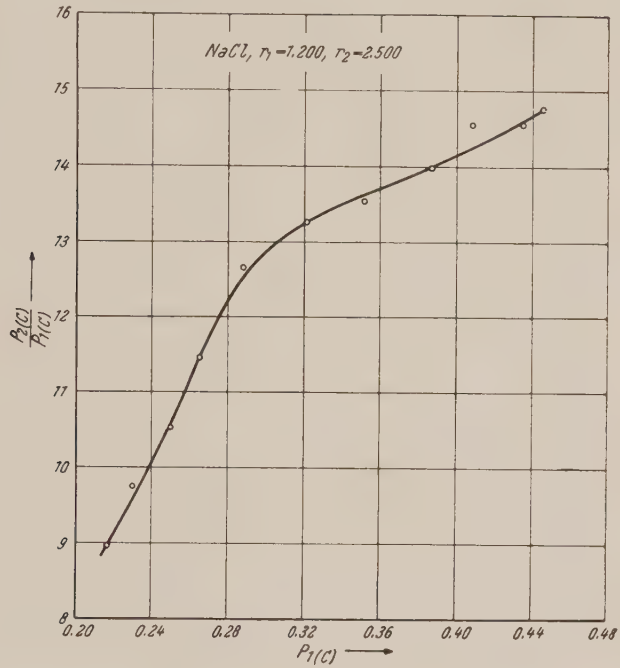


Fig. 7. Working curve for Double-Coefficient Method

3. A sample solution which contained 0.280 meq/l NaCl as specified substance and 5% ethanol, 3% sucrose, 1% $BaCl_2$ and 1% KCl as concomitants was treated as unknown sample (a hidden x is 0.280 meq/l).

Table IV. Example of Standard-Addition and Measurement

Δ (meq/l)	0	(Δ_1) 0.12	(Δ_2) 0.52	(Δ_3) 0.82
C (meq/l)	x	$x + 0.12$	$x + 0.52$	$x + 0.82$
$I^*_{x+\Delta}$ (on % T scale)	7.85	10.70	18.03	22.35
$\log I^*_{x+\Delta}$	0.895	1.029	1.256	1.349
$\log r_\Delta = \log \frac{I^*_{x+\Delta}}{I^*_x}$	0	0.134	0.361	0.454

By standard addition, a series of solutions which contained specified substance x, $x + \Delta_1$, $x + \Delta_2$, etc. and the same concentration of concomitants was prepared; radiation intensities for each solution were measured under the conditions given in Table I, and $\log r_\Delta = \log \frac{I^*_{x+\Delta}}{I_x{}^*}$ was calculated. Results are summerized in Table IV.

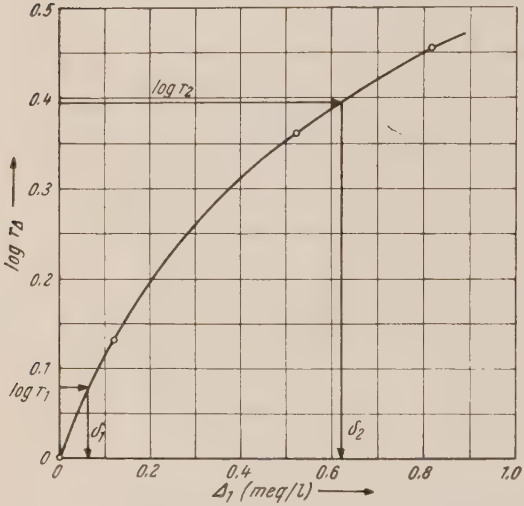


Fig. 8. Determination of δ_1 and δ_2 by interpolation

4. In order to determine a couple of adequate Δ values corresponding to the specified r_1 and r_2 values, each $\log r_\Delta$ was plotted against the respective Δ as in Fig. 8 and as the result of a smooth interpolation δ_1 and δ_2 were found to be 0.064 and 0.624 (meq/l), respectively. Thus, $\frac{\delta_2}{\delta_1} = \frac{0.624}{0.064} = 9.750$ was obtained. By applying this value of $\frac{\delta_2}{\delta_1}$ to the $P_{2(C)}/P_{1(C)} - P_{1(C)}$ working curve ($\delta_2/\delta_1 = P_{2(C_0)}/P_{1(C_0)} \ldots$ eq. 11), $P_{1(C_0)} = 0.235$ was found (in Fig. 7). Finally $x = \frac{\delta_1}{P_{1(C_0)}} = \frac{0.064}{0.235} = 0.272$ meq/l (eq. 12) was obtained. As the real x was 0.280 meq/l, the percentage error was — 2.9%.

V. Results

A number of experiments have been carried out to examine the applicability of the Double-Coefficient Method here proposed.

The xs found when the new method was applied to the determination of NaCl in five samples A, B, C, D, and E have been tabulated in Table V together with the relative errors.

The conditions for flame-photometric measurements were the same as given in Table I.

In the third column of the Table V the method which was used is indicated. Each of the methods a, b, c used the Double-Coefficient Method but with different pairs of r_1 and r_2, namely, a: $r_1 = 1.200$, $r_2 = 2.500$, b: $r_1 = 1.200$, $r_2 = 1.500$, c: $r_1 = 2.000$, $r_2 = 2.500$. This was done in order to investigate the effect of r_1 and r_2 on the accuracy of the results. Method d is *not* the Double-Coefficient Method, *but* a method using the "specified" C–I curve as a direct calibration curve and taking interference

Table V. Determination of NaCl, x Found by Several Methods and Relative Error

Sample	Concomitant	x hidden / Method	0.200 (meq/l)	0.280	4.00	0.550	0.800	1.100	1.500
A	Ethanol 5% Sucrose 3% $BaCl_2$ 1% KCl 1%	a	0.201 (+0.5)*	0.272 (−2.9)	0.403 (+0.8)	0.556 (+1.1)	0.774 (−3.3)	1.065 (−3.2)	1.531 (+2.1)
		b	0.200 (±0.0)	0.268 (−4.3)	0.409 (+2.3)	0.604 (+9.8)	0.789 (−1.4)	1.056 (−4.0)	1.721 (+14.7)
		c	0.199 (−0.5)	0.286 (+2.1)	0.408 (+2.0)	0.487 (−14.0)	0.800 (±0.0)	1.061 (−3.5)	1.414 (−3.7)
		d	0.35 (+75)	0.51 (+82)	0.77 (+93)	1.12 (+103)	1.78 (+123)	2.63 (+139)	3.86 (+157)
B	CCl_3COOH 1%	a	0.191 (−4.5)	0.280 (±0.0)	0.405 (+1.3)	0.535 (−2.7)	0.750 (−6.3)	0.997 (−9.4)	1.618 (+7.9)
		b	0.188 (−6.0)	0.273 (−2.5)	0.417 (+4.3)	0.551 (+0.2)	0.812 (+1.5)	1.032 (−6.2)	1.610 (+7.3)
		c	0.195 (−2.5)	0.276 (−1.4)	0.386 (−3.6)	0.504 (−8.4)	0.726 (−9.3)	1.189 (+8.1)	1.867 (+24.5)
		d	0.201 (+0.5)	0.280 (±0.0)	0.399 (+0.3)	0.550 (±0.0)	0.804 (+5.0)	1.109 (+0.8)	1.535 (+2.3)
C	H_2SO_4 2%	a	0.200 (±0.0)	0.268 (−4.3)	0.410 (+2.5)	0.565 (+2.7)	0.822 (+2.8)	1.135 (+3.2)	1.622 (+8.1)
		b	0.200 (±0.0)	0.256 (−8.6)	0.413 (+3.3)	0.600 (+9.1)	0.861 (+7.6)	1.173 (+6.6)	1.707 (+13.8)
		c	0.183 (−8.5)	0.274 (−2.1)	0.407 (+1.8)	0.526 (−4.4)	0.789 (−1.4)	1.214 (+10.4)	1.802 (+20.1)
		d	0.189 (−5.5)	0.265 (−5.4)	0.374 (−6.5)	0.511 (−7.1)	0.738 (−7.8)	1.007 (−8.4)	1.371 (−8.6)
D	KCl 0.5%	a	0.193 (−3.5)	0.256 (−8.5)	0.400 (±0.0)	0.524 (−4.7)	0.760 (−5.0)	1.057 (−3.9)	1.578 (+5.2)
		b	—	0.240 (−14.2)	0.396 (−1.0)	0.512 (−6.9)	0.773 (−3.3)	1.044 (−5.0)	1.526 (+1.7)
		c	0.163 (−19.0)	0.267 (−4.6)	0.391 (−2.2)	0.545 (−0.9)	0.839 (+3.4)	1.233 (+12.0)	1.845 (+23.0)
		d	0.202 (+1.0)	0.295 (+5.4)	0.431 (+7.8)	0.600 (+9.1)	0.881 (+10.1)	1.247 (+13.4)	1.766 (+17.7)
E	CH_3COOH 5%	a	0.202 (+1.0)	0.277 (−1.0)	0.393 (−1.8)	0.557 (+1.3)	0.797 (−0.4)	1.053 (−4.3)	1.589 (+5.9)
		b	0.178 (−11.0)	0.273 (−2.5)	0.396 (−1.0)	0.589 (+7.1)	0.828 (+3.5)	1.047 (−4.8)	1.576 (+5.1)
		c	0.191 (−4.5)	0.274 (−2.1)	0.402 (+0.5)	0.575 (+4.6)	0.857 (+7.1)	1.001 (−9.0)	1.362 (−9.2)
		d	0.235 (+17.5)	0.333 (+19.0)	0.480 (+20.0)	0.668 (+21.5)	0.977 (+22.2)	1.371 (+24.6)	1.932 (+28.8)

a Double-Coefficient Method, $r_1 = 1.200$, $r_2 = 2.500$.
b Double-Coefficient Method, $r_1 = 1.200$, $r_2 = 1.500$.
c Double-Coefficient Method, $r_1 = 2.000$, $r_2 = 2.500$.
d Direct specified C–I curve method, leaving interference out of consideration.

* Figures in parenthesis are % errors.

of concomitants out of adequate consideration. This has been given only for comparison and a large systematic error in the result obtained by method d is an indication of serious interference of concomitants.

VI. Discussion

1. Choice of r_1 and r_2

By comparing the relative errors of the result obtained with three different pairs of r_1 and r_2, i. e., method a, b, c, it will be seen that the error of method a is relatively small being rarely greater than 10%. Thus it may be concluded that r_2/r_1 should be comparatively large.

2. Relation Between Interference and Error

By comparing the results on samples A, B, C, D, E with each other, it is obvious that the error of the Double-Coefficient Method has no relation to the magnitude of the interference of concomitant: In the case of sample A, method d gives very erroneous results (sometimes errors exceed 100%) indicating a very serious interference by the concomitants, while in case of sample B, method d gives very accurate results, indicating negligible interference by CCl_3COOH, but with the Double-Coefficient Method there is no appreciable difference between the results on samples A and B. This is understandable since the only prerequisite for the Double-Coefficient Method is the log—log translation rule, and it does not matter how different the "concomitant" *C–I* curve may be from the "specified" *C–I* curve.

This conclusion leaves no doubt that the Double-Coefficient Method may be applied to the determination of elements other than Na whereever the log—log translation rule is valid. This applicability has been confirmed by a few determinations of Li and K.

3. Speculations on the Practical Utility of the Double-Coefficient Method

It seems that one of the most important feature of the flame-photometric method of determination, as a tool of routine analyses, is the rapidity and simplicity of the procedure. It may be argued that the procedure involved in the Double-Coefficient Method is less simple, thus limiting the applications of the method to rather special cases. However, this new method is undoubtedly very significant and useful if certain special conditions are fulfilled.

In the first place, it has been theoretically suggested[3] that the shape of the $\log C - \log I$ curve should ideally be individual and characteristic of each element emitting radiation. But in practice it is found that the $\log C - \log I$ curve may take a different shape for a different burner. This may be so because of the existence of *non-ideal* exciting conditions

in different flame. The "ideal excitation condition" has not yet been determined experimentally, but may possibly be realised in the future. Alternatively, a universal $\log C - \log I$ curve might be constructed for a specified element and an elaborately fitted function of the C–I curve might possibly be found and used for the calculation of the calibration curve necessary in the Double-Coefficient Method, i. e., the $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ — — $P_{1(C)}$ curve. When the universal calibration curve—which is universal because the calibration curve in the Double-Coefficient Method is only dependent upon the shape of the universal $\log C - \log I$ curve—is once constructed, the Double-Coefficient Method should be carried out very simply and rapidly.

The second possible special case is as follows: In some case the $\log C - \log I$ curve may be linear, and here the Double-Coefficient Method could be extremely simplified as follows:

A linear $\log C - \log I$ relation should be synonymous with that the "specified" C–I function, and $I = f_{(C)}$, has a general form

$$I = f_{(C)} = \alpha \cdot C^{\beta} \tag{13}$$

where α, β are constant. Then from the log–log translation rule, the "concomitant" C–I function should take the form

$$I^* = n \cdot f_{(m \cdot C)} = n \cdot \alpha \, (m \cdot C)^{\beta} = \alpha' \cdot C^{\beta} \tag{14}$$

where $\alpha' = n \cdot \alpha \cdot m^{\beta}$ is also another constant. In other words, the "concomitant" $\log C - \log I$ curve will again be linear and parallel to the "specified" $\log C - \log I$ curve*. In this case it can be shown that $P_{1(C)}$, $P_{2(C)}$ and $P_{2(C)}/P_{1(C)}$ are all constant over the whole range of C for a given prefixed pair, r_1, r_2. From eq. (13), (3) and (4) we have

$$I_C = \alpha \cdot C^{\beta}, \tag{15}$$

$$I_{C'} = \alpha \cdot C'^{\beta} = r_1 \cdot (\alpha \cdot C^{\beta}), \tag{16}$$

$$I_{C''} = \alpha \cdot C''^{\beta} = r_2 \cdot (\alpha \cdot C^{\beta}). \tag{17}$$

From eq. (16),

$$\frac{C'}{C} = r_1^{\frac{1}{\beta}}$$

therefore, according to eq. (5), it follows that

$$P_{1(C)} = \frac{C'}{C} - 1 = r_1^{\frac{1}{\beta}} - 1 : \text{constant}. \tag{18}$$

* Actually in such a case m and n have no independent significance and either one of them can be arbitrarily regarded as 1.0. Then either the Concentration-Coefficient Method or the Intensity-Coefficient Method may be applied for determination (see ref. 2).

And similarly from eq. (17) and (6),

$$P_{2(C)} = \frac{C''}{C} - 1 = r_2^{\frac{1}{\beta}} - 1 : \text{constant}, \tag{19}$$

so that

$$\frac{P_{2(C)}}{P_{1(C)}} = \frac{r_2^{\frac{1}{\beta}} - 1}{r_1^{\frac{1}{\beta}} - 1} : \text{constant}. \tag{20}$$

These are constant over whole range of C, therefore we have

$$P_{1(C_0)} = r_1^{\frac{1}{\beta}} - 1. \tag{21}$$

Then, obtaining δ_1 by ordinary procedures, x can be directly calculated as

$$x = \frac{\delta_1}{P_{1(C_0)}} = \frac{\delta_1}{r_1^{\frac{1}{\beta}} - 1}. \tag{22}$$

From these considerations it may be suggested that in the future an investigation into the dependence of the $\log C - \log I$ relation on various excitation conditions, and a search for a method of controlling the C–I function would be of great interest and practical value.

Acknowledgement

We are very much indebted to Mr. *S. Kume* and Mr. *S. Iwata* who cooperated with us in the preliminary part of the investigation.

Summary

A new flame-photometric method of determination, the Double-Coefficient Method, based upon the standard-addition technique has been proposed.

The method is found to be useful for samples where a concomitant may seriously interfere with the radiation intensity of the specified substance. No knowledge about sample composition is needed and the only prerequisite to the method is the log–log translation rule which has been generally valid when alkali metals are specified and concomitants cause multiplicative interference. In other words, the method is generally applicable where the "concomitant" C–I curve is expressed in a form $I^* = n \cdot f_{(m \cdot C)}$ in which I^* is the intensity recorded, C is the concentration of specified substance, $I = f_{(C)}$ is the expression for the "specified" C–I curve and m and n are constants which need not be known.

Many determinations of NaCl have been carried out with various interfering concomitants. In only exceptional cases did the relative error exceed 10% no matter how much interference there was from concomitants.

It is suggested that some investigation into the dependence of the $\log C - \log I$ relation on various excitation conditions, and some method of controlling the C–I function would be of great interest and practical value. In some special case the Double-Coefficient Method needs only a very simplified procedure.

Zusammenfassung

Eine neue flammenphotometrische Bestimmungsmethode wird vorgeschlagen. Diese „Doppel-Koeffizient-Methode" beruht auf der Zugabe von Standard-Substanzen und erwies sich als geeignet für Proben, in denen eine Begleitsubstanz die Strahlungsintensität des zu bestimmenden Elementes wesentlich beeinflußt. Keinerlei Kenntnis der Zusammensetzung der Probe ist nötig. Die einzige Vorbedingung des Verfahrens ist das „Gesetz der log–log-Übertragung", das allgemein für die Bestimmung von Alkalimetallen neben multiplikativ störenden Begleitsubstanzen gültig ist. Mit anderen Worten, die Methode ist allgemein dort anwendbar, wo die C–I-Kurve der Begleitstoffe durch die Beziehung $I^* = n \cdot f_{(m \cdot C)}$ ausdrückbar ist; darin steht I^* für die beobachtete Intensität, C für die Konzentration des zu bestimmenden Elementes, $I = f_{(C)}$ gilt für die C–I-Kurve des zu bestimmenden Elementes, m und n stellen Konstanten dar, deren Wert nicht bekannt zu sein braucht.

Zahlreiche Bestimmungen von NaCl wurden neben verschiedenen störenden Begleitstoffen ausgeführt. Nur in Ausnahmefällen und unabhängig von dem Ausmaß deren störender Wirkung überschritt der Fehler 10%.

Die Untersuchung der Abhängigkeit des $\log C - \log I$-Verhältnisses unter verschiedenen Anregungsbedingungen sowie eine Überprüfung der C–I-Funktion wäre von großem Interesse und praktischem Wert. In einzelnen, besonders gelagerten Fällen bedarf die „Doppel-Koeffizient-Methode" nur einer sehr vereinfachten Arbeitsweise.

Résumé

On a proposé une nouvelle méthode de dosage par photométrie de flamme, la méthode du double coefficient, fondée sur la technique d'addition d'un échantillon-type. On a trouvé que cette méthode était utile pour l'analyse des échantillons dans lesquels la présence d'une substance concomitante était susceptible d'altérer de façon importante l'intensité de radiation de la substance étudiée. Il n'est pas nécessaire de connaître la composition de l'échantillon, il suffit de connaître au préalable la règle de translation log-log qui est généralement valable lorsque la substance étudiée est un métal alcalin et que les substances concomitantes donnent lieu à des erreurs multiples. En d'autres termes, la méthode est généralement applicable lorsque la courbe C–I de la substance "concomitante" s'exprime sous la forme $I^* = n \cdot f_{(m \cdot C)}$ dans laquelle I^* est l'intensité enregistrée, C est la concentration de la substance étudiée, $I = f_{(C)}$ est l'expression de la courbe C–I pour la substance étudiée et m et n des constantes qu'il n'est pas necessaire de connaître.

De nombreuses déterminations de NaCl ont été effectuées en présence de diverses substances concomitantes gênantes. Ce n'est que dans des cas exceptionnels que l'erreur relative s'est élévée au-dessus de 10%, indépendamment de l'importance des perturbations apportées par les substances concomitantes.

On propose de rechercher l'influence de certaines conditions d'excitation sur la relation $\log C - \log I$ et d'établir une méthode de contrôle de la fonction C–I, qui seraient d'une grande valeur pratique. Dans quelques cas particuliers la méthode du double coefficient ne nécessite qu'une technique très simplifiée.

References

[1] *S. Fukushima, M. Shigemoto, I. Kato,* and *K. Otozai,* Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 35.

[2] *S. Fukushima, K. Takahashi, S. Terasaka,* and *K. Otozai,* Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 183.

[3] *C. G. James* and *T. M. Sugden,* Nature **171**, 428 (1953).

Department of Chemistry, The University, Birmingham 15, and Institut für anorganische und allgemeine Chemie (Laboratorium für Mikroanalyse), Technische Hochschule, Wien

Studies in Qualitative Inorganic Analysis. VIII*

Notes on the Semi-Systematic Scheme for the Detection of Anions

By

R. Belcher and **H. Weisz**

(Received March 26, 1958)

Since the publication of our semi-systematic scheme for the detection of anions[1] we have taken care to note which particular sections of the scheme have given more than the usual troubles in the hands of students. From the further experience thus gained we have made some minor alterations.

Perhaps the most surprising feature has been the rather unintelligent application of the scheme by some students. For example, if the preliminary tests have indicated the absence of organic matter, or if arsenic was not found during the separation of cations, the tests for organic acids or arsenite and arsenate have still been painstakingly carried out: obviously careful consideration of previous findings should eliminate the necessity for making certain tests. When such an approach is used, the identification of a mixture of anions becomes a very rapid and simple procedure. Of course, where there is any doubt the appropriate further tests should be applied, and one of the advantages of the scheme is its flexibility for this purpose.

For this reason, we now indicate where short cuts may be taken, but it should be understood that the assumption is made that in the preliminary tests the findings have been conclusive and unequivocal; if they have not been, further tests should be done. It may be thought that such short cuts are too obvious to record, but this has not been our experience with students or from discussions we have had with various teachers.

---

* Part VII: Mikrochim. Acta [Wien] **1958**, 406.

The suggestions for short cuts and the alterations are described under each group; the letters and numbers refer to the original scheme.

A

1. If the precipitate is white, there is no need to test for ferrocyanide, ferricyanide and sulphide because their silver salts are distinctly coloured. Sulphide would have been detected in the preliminary tests and need not be tested for here unless confirmation is required.

2. Arsenite need not be tested for if arsenic was not found during the examination for cations. If the precipitate is pure white, obviously arsenite and periodate are absent and no test need be made.

3. If the precipitate is pure white, iodide need not be tested for.

(a) To test for iodide spot with sodium nitrite solution (1%) instead of holding the paper over nitric acid fumes. Some preparations of nitric acid do not contain sufficient nitrogen oxides to release free iodine.

(b) When bromide is tested for, the washing drives the free bromine to the periphery of the spot. It is essential therefore, to ensure that sufficient fluorescein reagent is added to overlap this point slightly, otherwise the reagent will not come in contact with the free bromine. Two and sometimes three drops may be necessary. The paper should finally be rinsed under the tap for a few seconds; the red colour is thus rendered more visible.

(c) It is now recommended that the test for chloride be done in a tube rather than on a watch-glass, for if the solution is heated too strongly and thus evaporates to dryness it is difficult to redissolve the residue.

Procedure

Transfer 2 drops to a tube, add 2 drops of oxine solution, 2 drops of hydrogen peroxide–acetic acid solution and 1 drop of concentrated nitric acid. If the temperature of the heating block can be controlled readily (i. e. the special type which gives graded temperatures[2]) heat the tube at 60–80° C for three minutes. Otherwise, pass the tube several times through the flame of the burner until the liquid is about 60–70° C (i. e. too hot to touch) and maintain at this temperature by passing it occasionally through the flame. The solution should not be allowed to boil; if this occurs the tube should be removed immediately from the flame. The whole operation should be spread over 2–3 minutes. Whichever method of heating has been used allow the liquid to cool to room temperature and then test for chloride.

B

When this second group is precipitated by the addition of nitric acid, it is advisable to add 2–3 drops in excess rather than one drop because silver oxalate may precipitate if the solution is not strongly acid.

If no organic matter was found during the preliminary tests (and, of course, its absence or presence would have to be established before separating cations of the iron group) then benzoate and salicylate need not be tested for.

C

Silica need not be tested for since it should have been found during the preliminary tests and the separation of cations.

The reduction of silver halates with zinc follows a different course from the reduction of the halides. At an early stage in the reduction halate and halide ions are present and the corresponding halogen is liberated. If the reduction is allowed to go to completion considerable losses of halogens take place; hence it is necessary to test as soon as a yellow-brown coloration forms and at this stage the silver halate is incompletely decomposed. The following simple alternative overcomes this inconvenience. The halates are reduced to halides with bisulphite and the reduction with zinc can then proceed as in A 3 and the solution may be left as long as desired without losses occuring.

Add a knife-point of sodium bisulphite to the washed silver halate and about 1 ml of water. Agitate the precipitate with a glass rod and allow to stand for about 1 minute; the corresponding silver halides are formed and usually settle sufficiently well for the supernatant liquid to be removed and discarded without the need for centrifuging. Wash with water, allow the precipitate to settle and remove and discard the supernatant liquid. Reduce with zinc and acetic acid exactly as described in A 3, i. e. allow the reduction to proceed for 10–15 minutes and then test for bromide and iodide.

D and E

The method of separating calcium tartrate from calcium oxalate and fluoride by extraction with acetic acid is very well-known and is referred to in many text-books. We noted in our earlier work that calcium tartrate dissolved with great difficulty in acetic acid and for this reason recommended a second extraction of the residue (calcium oxalate and fluoride) before this was examined further[1].

Many students have reported oxalate when it was absent (usually when tartrate was present), and have reported tartrate absent when it was present. This led us to re-examine the solubility of calcium tartrate in acetic acid. Although the solubility depends on the concentration of acetic acid we find it is far less soluble than is generally supposed, and a far better separation of this group is obtained when very dilute acetic acid is used for the extraction. Calcium tartrate remains un-

dissolved (with calcium oxalate and fluoride) and calcium arsenate and phosphate still dissolve readily.

We now also recommend the aniline blue test for oxalate[3] and the silver test for arsenate[4].

Procedure

Wash the calcium precipitate twice with water. Add 0.5 ml of dilute acetic acid (1 : 19), shake and allow to stand for about 1 minute. Shake again and centrifuge.

Residue	*Solution*
Calcium oxalate	Calcium arsenate
Calcium tartrate	Calcium phosphate
Calcium fluoride	

1. *Fluoride*

This should have been found in preliminary tests and so need not be looked for here. If confirmation is required use the lead crucible test.

2. *Oxalate*

Transfer part of precipitate to a tube, rinse with ethanol, and expel excess by warming. Add 2–3 drops of syrupy phosphoric acid and a knife point of diphenylamine. Warm over a flame. Cool, add several drops of ethanol and warm.

Blue solution = Oxalate.

3. *Tartrate*

Dissolve the remainder of the precipitate by adding a few drops of water followed by dropwise addition of nitric acid. When a clear solution is obtained add 2–3 more drops of nitric acid. Add an equal volume of silver periodate reagent and warm. Do not boil.

White precipitate = Tartrate.

4. *Phosphate*

This should have been detected during the cation separations and need not be tested for here. If confirmation is required test with tartrate–molybdate reagent.

5. *Arsenate*

If arsenic was not found during the cation separation it need not be looked for here. If it was found add a few drops of silver nitrate to the acetic acid solution.

Brick red precipitate = Arsenate.

F

If chromium was not found in the cation separation no further tests need be applied.

G

As in the cation scheme, this last group, for which there is no common precipitant, gives some difficulties. The solution has to be divided into portions and it contains the accumulated excess of all reagents which have been added. We have sought to simplify the examination of this group.

Only traces of bromate are carried through and no further test need be made. Borate should have been found in the preliminary tests and need not be tested for here. We have tried many tests for succinate as well as methods for the separation of succinate and citrate and have concluded that none is dependable. Succinate has therefore been withdrawn from the scheme until a satisfactory test is available. It is now only necessary to test for citrate in this group if a conclusive borate test has been found. The procedure is exactly the same as described in our previous paper.

Summary

Some minor modifications have been made to the semi-systematic scheme in the light of further experiences. The main alterations are the regrouping of tartrate with fluoride and oxalate, and the withdrawal of succinate from the scheme owing to the unreliability of existing tests. Some of the earlier tests have been replaced.

Zusammenfassung

Auf Grund weiterer Erfahrungen wurden bei dem früher ausgearbeiteten[1], halbsystematischen Analysengang zum Nachweis von Anionen einige geringfügige Änderungen vorgenommen. Deren wichtigste betreffen einerseits die Zusammenfassung von Tartrat, Fluorid und Oxalat in eine eigene Untergruppe, anderseits die Herausnahme des Succinats aus dem Analysengang mangels verläßlicher Nachweise für dieses Anion. Einige der früher angegebenen Nachweisreaktionen wurden durch andere ersetzt.

Résumé

On a apporté quelques modifications mineures au schéma semi-systématique à la lumière de nouvelles expériences. Les principaux changements sont le regroupement du tartrate avec le fluorure et l'oxalate ainsi que le retrait du succinate du fait de l'insécurité des essais existants. Quelques essais antérieurement décrits ont été remplacés.

References

[1] *R. Belcher* and *H. Weisz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1847.
[2] "Qualitative Inorganic Analysis Tables": Midlands Qualitative Analysis Committee, 3rd Ed. 1958.
[3] *F. Feigl*, Spot Tests in Organic Analysis, 5th Ed. Amsterdam: Elsevier. 1956. p. 355.
[4] *F. Feigl*, Spot Tests, Vol. I, 4th Ed. Amsterdam: Elsevier. 1954. p. 98.

Aus dem Hauptlaboratorium der Neunkircher Eisenwerk A. G., Neunkirchen/Saar

Füllvorrichtung für einfache Mikrobüretten

(Kurze Mitteilung)

Von

S. Mayer und **O. G. Koch**

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 25. November 1957)

Vor kurzem erschien in dieser Zeitschrift eine Mitteilung[1] über eine Füllvorrichtung für einfache Mikrobüretten (Gesamtvolumen 10 ml), bei der diese von unten durch die Bürettenspitze mittels Druckluft gefüllt werden. Bekanntlich bereitet das Füllen einfacher Mikrobüretten mit einem Fassungsvermögen von 1 bis 10 ml infolge des Auftretens von Luftblasen gewisse Schwierigkeiten, die durch die genannte Füllvorrichtung vermieden werden. Von uns wird zur Füllung solcher Bü-

retten die in Abb. 1 dargestellte Einrichtung verwendet, die sich bereits seit längerer Zeit sehr gut bewährt hat und nach unserer Ansicht einfacher und weniger störanfällig ist.

Um die Bürette zu füllen, drückt man bei geschlossenem Bürettenhahn *D* und geöffnetem Glashahn *A* den Gummiballon *B* zusammen, schließt hierauf den Glashahn *A*, taucht die Bürettenspitze in die aus der Vorratsflasche entnommene, in einem kleinen Becherglas befindliche Titrierlösung und öffnet den Bürettenhahn *D*. Die Maßlösung wird hierdurch rasch bis zur gewünschten Marke aufgesaugt. Nach Schließen des Hahnes *D* und Öffnen des Hahnes *A* ist die Bürette verwendungsbereit. Ihre Reinigung kann auf dieselbe Weise erfolgen, ohne daß sie aus dem Stativ genommen werden muß. Zweckmäßig ist es, die Bürette mit dest. Wasser gefüllt stehen zu lassen, solange sie nicht in Verwendung ist.

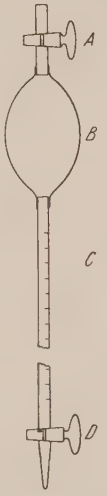


Abb. 1. Füllvorrichtung für Büretten mit 1 bis 10 ml Fassungsvermögen; *A* Glashahn, *B* Gummiballon, *C* Bürette, *D* Bürettenhahn

Auf einem ähnlichen Prinzip beruht die Verwendung einer Membranpumpe zur Füllung der Mikrobürette nach *Gorbach*[2] (Gesamtvolumen 0,2 ml) bzw. zur Füllung von Auswaschpipetten[3]. Zur Füllung der oben genannten 10-ml-Büretten bietet die Membranpumpe gegenüber der beschriebenen Fülleinrichtung keinen Vorteil, da die Füllung wegen des Bürettenhahns zu umständlich wäre und im Vergleich zu der oben beschriebenen Art zu lange dauern würde.

Literatur

[1] *K. Eder*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 226.
[2] *G. Gorbach*, Mikrochemisches Praktikum. Berlin: Springer-Verlag. 1956.
[3] *G. Gorbach* und *A. Haack*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1751.

Contribution from the National Physical Laboratory of India, New Delhi-12

Glass Apparatus for Annular Spot Testing

(Short communication)

By

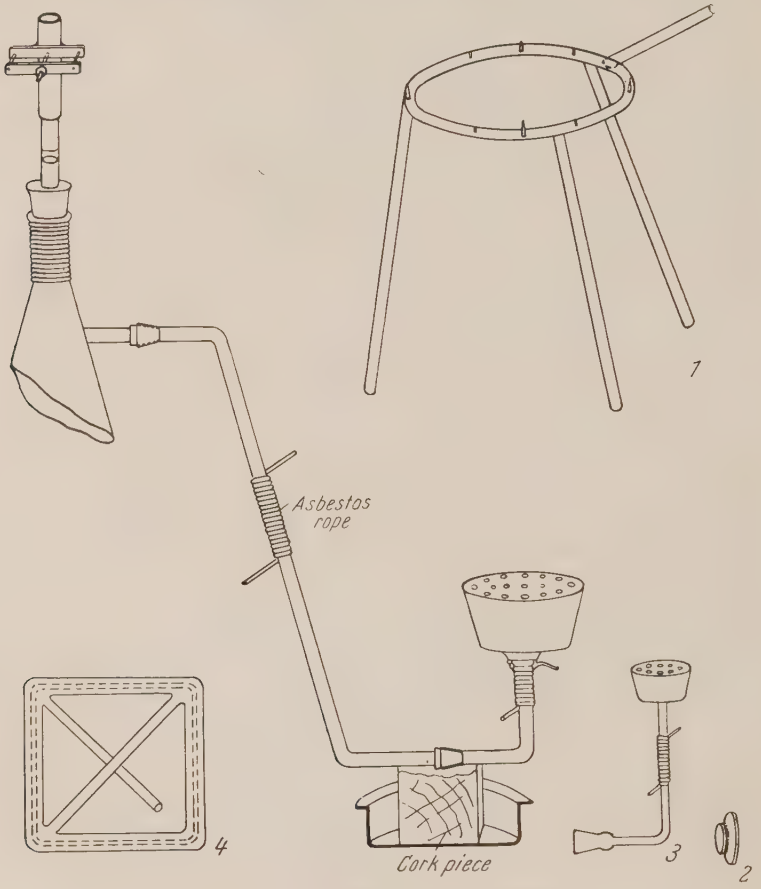
V. M. Bhuchar

With 4 Figures

(Received February 10, 1958)

In the course of investigation of spot-test-methods[1] in this laboratory, it became necessary to separate from a single spot a number of ions in

concentric zones for subsequent identification. Treatment of the filter paper while holding the same in hand was attended with sagging and contamination and generally gave irregular patterns of separated zones. Further it was inconvenient to carry on other operations such as exposing



Figs. 1—4. Apparatus for Spot Testing

the paper to steam, gases or vapour. In order to avoid these difficulties, the following pieces of apparatus were developed.

Spiked Glass Ring. It consists of a ring of glass tubing with three legs and a handle. The top side of the ring has four tall and four short spikes, alternating with each other, Fig. 1. It may be about 1 to 2 cm less in diameter than that of the filter paper being used. A set of four spiked rings with diameters of 20, 15, 12 and 7.5 cm and 15-cm height has been found useful. For fixing the filter paper on the ring, the paper is placed on a sheet of foam-rubber and the ring is pressed on it upside

down. The bigger spikes puncture the filter paper, and the points of the smaller spikes hold it at four more points. The spikes hold the filter paper taut and thus help to lessen any sagging in the course of working. Thus the filter paper remains separated from the surface of the glass ring, and contamination and draining of the eluant by the surface of the glass is avoided. The filter paper is kept in the horizontal position. The handle and the legs facilitate operation and handling.

Spot Marker. Before applying the test material, the location on the filter paper is generally marked with a pencil. This mark may introduce impurities. These can be avoided by the use of a spot marker made of glass which may be round for annular spot testing, Fig. 2, or rectangular for use with strips. The marking bit is only a fraction of a millimeter high so that it does not tear the paper. It is ground to obtain the desired height and a smooth top surface.

The place on the filter paper, which is to receive the test drop, is moistened with a small drop of water or eluant, whereafter the paper is placed on a resilient clean surface. The spot marker is pressed on and gives an indentation that may also serve as a micro-dish of filter paper.

Steaming Nozzle. It resembles a Büchner funnel and is connected to a steam generator via two interchangeable joints, Fig. 3. The nozzles were made of glass and their tops received several concentric rings of holes of 1 mm diameter. All connecting tubing was wrapped with asbestos rope for lagging and ease of handling. The short safety tube of the boiler was provided with a rubber tubing and a screw clamp for the regulation of the pressure.

The filter paper on the spiked ring is placed above the steaming nozzle, and the distance can be adjusted with the help of the interchangeable joints. The nozzle can be supported by a cork placed in a dish. Chemical reactions and elution processes may be helped by playing wet steam on the paper.

Paper Holder. The action of gases like chlorine, hydrogen sulfide, etc. can be conveniently effected by placing the filter paper in a suitable enclosure, e. g., in a desiccator filled with the particular gas. The filter paper can be held in a glass square made of a piece of thick glass tubing fitted with two pieces of thin glass tubing crossed diagonally. The filter paper is held between these crossed bars. One end of these, Fig. 4, is left free to provide play for the spring action.

Each of the above pieces of apparatus can be easily constructed from glass tubing in sizes to suit individual or specific requirements.

The author thanks Mr. *M. K. Biswas* of the Glass Blowing Section of this Laboratory for help in fabrication of the apparatus described above.

Reference

[1] *V. M. Bhuchar* and *M. R. Verma,* Mikrochim. Acta [Wien] **1958**, 342.

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften

The Metropolitan Microchemical Society

Thirteenth Annual Microchemical Symposium

On the twenty-first and twenty-second of March 1958, the Metropolitan Microchemical Society presented its Thirteenth Annual Microchemical Symposium at The American Museum of Natural History in New York City.

Prof. *Nicholas D. Cheronis* of Brooklyn College, Brooklyn, N. Y., described the continuation of his work on the fractionation and rigorous identification of the components of various organic mixtures. The inability of infra-red alone to prove identity of derivitized members of homologous series was noted with examples.

The technique and equipment utilized in micro manipulation with particular reference to its application to toxicological investigations was described in a paper by Dr. *Charles J. Umberger* of the Chief Medical Examiners Office of the City of New York, New York, N. Y.

Dr. *William L. Porter* of the U. S. Department of Agriculture, Eastern Utilization Research and Development Division, Philadelphia, Pennsylvania, reviewed the status of chromatography. Several techniques in solving the problems of separation were described. Dr. *Porter* pointed out that the failure to separate a sample into two or more fractions was not sufficient evidence of homogenity. The appearance of two fractions from a known pure substance was also discussed.

The after dinner speaker was Mr. *Robert Baumann*, Chief of the Satellite Structures Group of Project Vanguard, U. S. Naval Research Laboratory, Washington, D. C. Mr. *Baumann* discussed the function and place of Project Vanguard in the International Geophysical Year program. The problems of design and construction were presented. The data as received from Vanguard I, while still insufficient for a complete interpretation, was presented. The conditions of space as obtained from the various satellites were reviewed. The practicability of a television equipped satellite was described.

Further modifications of the rapid Micro-Dumas method were reported by Mr. *Grant M. Gustin* of the Celanese Corporation of America, Summit, New Jersey. This included the use of purified carbon dioxide and a novel Vigreaux-type nitrometer which has shortened the time of the determination to six minutes.

Miss *Barbara Hensle* of Ciba Pharmaceutical Products, Inc., Summit, New Jersey, presented a paper on the use of the Karl Fischer reagent as a means of determining the functional groups on a micro level.

Dr. *A. J. Barnard*, Jr., of J. T. Baker Chemical Co., Phillipsburg, New Jersey, reviewed in great detail the use of EDTA as a microanalytical reagent.

A new method for decomposing organic halides by fusion with zinc and lithium carbonate was described by Dr. *Eugene E. Gansel* of the Ansco Division of General Aniline and Film Corporation, Binghamton, New York.

Dr. *F. J. Debbrecht* of E. I. du Pont de Nemours and Company, Inc., Wilmington, Delaware, reported on a new method developed to determine organic halogens by treatment with sodium biphenyl followed by a potentiometric titration with silver nitrate. Mixed halides may be determined simultaneously. In determining the fluoride content, the use of the bismuth-bismuth fluoride electrode and titration with calcium nitrate were discussed.

A panel discussion on the Carbon and Hydrogen Determination was moderated by Dr. *Julius A. Kuck* of American Cyanamid Company, Stamford, Connecticut. The advantages of *Körbl*'s silver permanganate combustion tube packing was discussed by Mr. *Richard J. Zahner* of Socony Mobil Oil Company, Inc., Paulsboro, New Jersey. Dr. *Clyde L. Ogg* of the U. S. Department of Agriculture, Eastern Utilization Research and Development Division, Philadelphia, Pennsylvania, presented the use of semi-micro methods and the problem of the real value of hydrogen results. Dr. *Herbert K. Alber* of Arthur H. Thomas Company, Philadelphia, Pennsylvania, discussed the equipment needed. A new type high temperature furnace was described. Many interesting comments and questions were offered from the floor.

Howard J. Francis

The Society for Analytical Chemistry

Ordinary Meetings of the Midlands Section

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7 p. m. on Thursday, March 13th, 1958, in the Gas Showrooms, Nottingham. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *R. Belcher*, F. R. I. C., F. Inst. F.

The following paper was presented and discussed:

"The Analytical Chemistry of Synthetic Detergents", by *W. B. Smith*, B. Sc. (Chief Analyst, Marchon Products Ltd.)

Surface-active agents that are used as detergents were described and qualitative and quantitative methods of determination were indicated. The full analysis of the commonest type of built synthetic detergent, the spray-dried powder, was then dealt with in detail, particular consideration was given to identification and determination of the surface-active constituents, of non-ionic additives, and of complex phosphates.

An Ordinary Meeting of the Midlands Section was held at 6.30 p. m. on Thursday, March 20th, 1958, in the Mason Theatre, The University, Edmund Street, Birmingham 3. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *R. Belcher*, F. R. I. C., F. Inst. F.

A discussion on: "The Determination of Toxic Substances in the Atmosphere" was opened by *J. C. Gage*, B. Sc., Ph. D., F. R. I. C. (I. C. I. Ltd., Medical Dept.).

The concept of the maximal allowable concentration of a toxic substance in the atmosphere was considered with particular reference to the significance of these values to the analyst. The general principles underlying the collection of a representative sample, and the desirable features in the design of the analytical method were discussed. The design of liquid absorbers was considered in the light of the theory of the retention of gases and particles by a liquid. Some attention was given to the special problems of sampling for particle size analysis.

Joint Meeting

A Joint Meeting of the Western Section and the South Wales Section of the Royal Institute of Chemistry was held at 6.30 p. m. on Friday, March 14th, 1958, at the Chemistry Department Lecture Theatre, University College, Singleton Park, Swansea. The Chair was taken by the Chairman of the Western Section, Mr. *S. Dixon*, M. Sc., F. R. I. C.

A lecture on: "Sequestration and its Analytical Applications" was given by *R. L. Smith*, B. Sc., Ph. D. (Messrs. Norman Evans and Rais Ltd.).

London Discussion Meeting of the Microchemistry Group

The fourteenth London Discussion Meeting of the Microchemistry Group was held at 6.30 p. m. on Wednesday, March 19th, 1958, in the restaurant room of "The Feathers", Tudor Street, London E. C. 4. The Chair was taken by the Honorary Secretary of the Group, Mr. *D. W. Wilson*, M. Sc., F. R. I. C.

A discussion on: "The Microdetermination of Carbon, Hydrogen and Nitrogen in the Presence of Interfering Elements" was opened by *G. Ingram*, A. R. I. C. (Courtaulds Ltd.).

Ordinary Meeting of the Scottish Section

An Ordinary Meeting of the Scottish Section was held at 6.50 p. m. on Monday, March 24th, 1958, in Room 24, The Royal College of Science & Technology, 204 George Street, Glasgow C. 1. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *Magnus Pyke*, F. R. I. C., F. R. S. E. Following an introductory talk by him, a film on *Polarography* was shown by Dr. *J. Masek* (Czechoslovak Polarographic Research Institute, Prague).

Joint Meeting

A Joint Meeting of the North of England Section and the Tees-side Local Section of the Royal Institute of Chemistry was held at 8 p. m. on Friday, March 28th, 1958, at the William Newton School, Junction Road, Stockton-on-Tees. The Chair was taken by the Chairman of the North of England Section, Mr. *A. N. Leather*, B. Sc., F. R. I. C.

The following paper was presented and discussed: "Residues in Foods Deriving from Processing Hygiene and Manufacturing Aids" by *J. B. M. Coppock*, B. Sc., Ph. D., F. R. I. C. (Spillers Ltd.) and *R. A. Knight*, B. Sc., F. R. I. C. (British Baking Industries Research Association).

Ordinary Meeting of the Society

An Ordinary Meeting of the Society, organised by the Physical Methods Group, was held at 7 p. m. on Wednesday, April 2nd, 1958, in the Meeting Room of the Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London W. 1. The Chair was taken by the President, Dr. *J. H. Hamence*, M. Sc., F. R. I. C.

The subject of the meeting was "Gas Chromatography" and the following papers were presented and discussed:

Introductory Talk by *C. S. G. Phillips*, M. A. (Fellow of Merton College and University Demonstrator, Oxford University).

In this an attempt was made to provide a brief outline of the methods of gas chromatography, the ways in which these are being developed to-day and some of the lines along which they may be developed in the near future.

"Applications of Gas Chromatography in the Halogenated Hydrocarbon Field", by *R. Hill*, B. Sc., A. R. I. C. (I. C. I. General Chemicals Division, Widnes).

The use of gas chromatography was described for (a) the analysis of complex mixtures (b) the determination of small amounts of impurities in substantially pure organic compounds and (c) the preparation of small quantities of pure materials required for research purposes. The value of the technique, particularly when used in conjunction with other physical methods such as infra-red and mass spectrometry was discussed.

"Gas Chromatography in the Petroleum Industry", by *D. H. Desty*, B. Sc. (The British Petroleum Co. Ltd., Sunbury-on-Thames).

Gas chromatography has a very wide application in the petroleum industry. Its use for gas analysis was discussed in relation to instruments developed in the author's laboratory employing the Janak method and katharometer and hydrogen flame detectors. Their field of application and quantitative accuracy were considered.

The design and construction of apparatus for the analysis of liquid hydrocarbon mixtures suitable for operation over a wide range of temperatures were described. The use of different column packings in the qualitative identification of hydrocarbons was illustrated and the quantitative interpretation of chromatograms discussed. The analysis of a reference fuel *iso*octane for minor impurities was used as an example.

Process monitor instruments were briefly considered together with the application of the technique to fuel distribution in multi-cylinder ignition engines and the use of large columns for preparative purposes in the laboratory.

Ordinary Meeting of the Midlands Section

An Ordinary Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 6.30 p. m. on Wednesday, April 16th, 1958, in the Mason Theatre, The University, Edmund Street, Birmingham 3. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *R. Belcher*, F. R. I. C., F. Inst. F.

The following paper was presented and discussed:

"The Analysis of Silicones and Related Organosilicon Compounds", by *J. C. B. Smith* (Midland Silicones Ltd.).

A brief description of the manufacture of silicones was given, followed by a consideration of the analytical chemistry both during and after manufacture. The speaker considered: 1. elemental analysis, with particular reference to silicon; 2. side group analysis (groups attached directly to silicon); 3. analysis of polymers.

The use of physical measurements for the characterisation of polymeric siloxanes was discussed in some detail and the methods in use for the analysis of commercially available silicone fluids, resins, rubbers and emulsions were outlined.

Meeting of the Biological Methods Group

A Discussion Meeting of the Biological Methods Group of the Society for Analytical Chemistry was held at 6.30 p. m. on Wednesday, April 16th, 1958, in the restaurant room of "The Feathers", Tudor Street, off Bouverie Street, Fleet Street, London E. C. 4. The Chair was taken by the Chairman of the Group, Dr. *S. K. Kon*, F. R. I. C.

A discussion on: "The Mathematics of Sterility Testing" was opened by Dr. *Maxwell Bryce*, B. Sc., B. Pharm, F. P. S., A. R. I. C. (Boots Pure Drug Co. Ltd., Nottingham).

Joint Meeting

A Joint Meeting of the Methods of Analysis Panel (Glasgow), formerly the Spekker Group, and the Scottish Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7.15 p. m. on Friday, 25th April, 1958, in the Royal College of Science and Technology, 204 George Street, Glasgow C. 1. The Chair was taken by the Chairman of the Methods of Analysis Panel, Glasgow, Mr. *J. H. Love*.

A lecture was given on:

"X-Ray Fluorescence Techniques in Analytical Chemistry", by *E. T. Hall*, M. A., D. Phil. (Archaeology and History of Arts Laboratory, University of Oxford).

The use of X-ray fluorescence both in the laboratory and in process control is an accomplished fact in the USA. However, in this country, in spite of the existence of the technique since 1914, the importance of the method is only just being realised.

An outline of the technique was given with some idea of how the physical, mechanical and electronic problems have been solved. Some reference was made to commercial equipments available and how automatic servo-controlled spectrometers can carry out automatic analysis of complex systems. Results can be given either intermittently in digital form or continuously in analogue.

Some comparisons were made to the optical spectrometer as well as an indication of possibilities in trace chemistry. Examples of suitable problems

with their attendant advantages were mentioned. Some mention was made of the advantages of this technique in non-destructive archaeological analysis of valuable museum objects.

Joint Meeting of the Society

A Joint Meeting of the Society for Analytical Chemistry and the Southern Region of the Association of Clinical Biochemists was held at 7 p. m. on Wednesday, May 7th, 1958, in the Meeting Room of The Chemical Society, Burlington House, Piccadilly, London, W. 1. The Chair was taken by the President, Dr. *J. H. Hamence*, M. Sc., F. R. I. C. who was introduced by the Chairman of the Southern Region of the A. C. B., Mr. *C. F. M. Rose*, A. R. I. C.

The subject of the meeting was "Electrophoresis in Clinical Biochemistry" and the following papers were presented and discussed:

"Basic Principles and Main Requirements for Satisfactory Electrophoresis", by Prof. *Nicholas H. Martin*, M. A., B. Sc., B. M., M. R. C. P., F. R. I. C. (St. George's Hospital, London, S. W. 1).

Recent developments in the application of electrokinetic phenomena to analysis have concentrated on simplification of apparatus and procedure, and on the analysis of small amounts of material. Unfortunately innovations with these ends in view have introduced factors which greatly increase the hazard of errors and the difficulty of effective comparison of analyses. Probably the most commonly used technique of identification and estimation of materials separated by electrophoresis is by combination with a coloured or radioactive substance followed by an estimate of the concentration of the marker. As an alternative the characteristic absorption spectrum of a given component can be identified and its intensity estimated. The pitfalls of these techniques need only passing reference as they have been dealt with extensively in recent articles, though it must be admitted that no satisfactory method of circumventing them has been put forward.

The use of a variety of stabilising media such as agar, starch gels, starch slurries and cellulose acetate, in addition to glass beads and filter paper, pose an entirely new set of problems. Thus *Pezold* (1958) and *Uriel* and *Grabar* (1957) have shown that the analyses of serum lipoproteins on paper produce results which differ from those on agar. While cellulose acetate (*Kohn*, 1955), an elegant medium for the general analysis of proteins, because of technical difficulties has not yet proved suitable in our hands for the routine indentification of lipoproteins. The starch gel technique of *Smithies* (1954) when properly controlled regularly separates sub fractions not identifiable on paper or on agar, though the sub fractions can be assigned to each of the traditional fractions (*Poulik* and *Smithies*, 1958).

It is evident that the mobilities produced by these techniques result not from a pure electrophoretic effect, but from an interplay of effects such as endosmosis, differential absorption, ultrafiltration (*Synge*, 1957) and diffusion, in addition to electrophoresis, and that because of the interplay of these effects the problem of comparison is very complex.

"Paper Electrophoresis of Lipoproteins", by *W. G. Dangerfield*, Ph. D., M. R. C. S., L. R. C. P. (North Middlesex Hospital, London, N. 18).

Until recently the value of paper electrophoresis in lipoprotein investigation has been limited by the difficulty in maintaining a consistent technique

and by the fact that a number of lipoproteins overlap in the β-lipid band. Preliminary high speed centrifugation of serum enables some separation of these β-lipids to be made; and freezing and thawing, which decomposes some lipids, may also assist in elucidating this complex band. The characteristic patterns found in desease (nephrosis, xanthomatosis, hyperlipaemia, biliary cirrhosis and liver failure) were illustrated, and the effects of fat absorption and injection of minute doses of heparin shown.

"The Clinical Application of Electrophoresis", by *A. L. Latner*, M. D., M. Sc., M. R. C. P., F. R. I. C. (Royal Victoria Infirmary, Newcastle-upon-Tyne).

The remarks were limited to the clinical applications of zone electrophoresis on paper strips and on starch gels.

Various types of abnormality obtained in clinical practice were shown. For most diagnostic purposes the qualitative result is sufficient. This does not apply to investigations with cerebrospinal fluid and here it is necessary to evolve a more or less reliable technique for quantitative scanning. Because of investigations in progress with disseminated sclerosis, such a technique is being evolved.

The different types of picture obtained with starch gels were shown and the abnormalities in various diseases were discussed with particular reference to the use of the technique in the syndrome of macroglobulinaemia. Starch gel is also being used to study the carriage in serum of substances running with the protein components.

Société de chimie industrielle

Groupe de chimie analytique

Séance du 6 Février 1958

Monsieur *L. Roger*, Président de la Société, annonce que la Société de Chimie Industrielle vient de créer un prix de chimie analytique qui, pour 1958, sera de 50.000 francs.

Le Docteur *Tremolières*, Président de séance, montre l'intérêt physiologique des dosages de sodium et de potassium. Puis, le Docteur *Sautier* expose les différentes méthodes qu'il a essayées. Après injection, de sodium et de potassium radioactif et prélèvement de plasma, il sépare les radioactivités en utilisant les rayonnements β. Il a étudié des méthodes chimiques de séparation, indiqué leurs avantages et leurs inconvénients. Le dosage au photomètre de flamme a été également très étudié.

Séance du 6 Mars 1958

Monsieur *Cl. Duval*, Président Honoraire, rapelle la création du Prix de chimie analytique qui sera attribué dans la séance du mois de juin, puis il annonce la triste nouvelle de la mort de Monsieur *A. Lassieur*, rédacteur en chef de *Chimie Analytique* et l'un des créateurs de ce groupment. Monsieur *Navarro*, vice-président, qui a assisté aux obsèques, prononce l'éloge funèbre.

Monsieur *Coulombeau*, ingénieur à l'I. R. S. I. D., parle du dosage du magnésium dans les scories et les laitiers par spectrophotométrie de flamme. Il utilise la raie 2852 Å et un appareil Beckman avec enregistreur automatique et amplificateur d'ondes. Le phosphore, le calcium et les alcalins sont très gênants.

Monsieur *Lenglet*, ingénieur à la C. S. F., parle ensuite de l'analyse des gaz à l'aide d'appareils basés sur les phénomènes de conductibilité, combustion catalytique, suspectibilité magnétique et absorption du rayonnement infrarouge.

Buchbesprechungen

G. Charlot: **L'analyse qualitative et les réactions en solution.** Vierte, gänzlich umgearbeitete Auflage. Mit 91 Abb., XI, 368 S. Paris: Masson et Cie. 1957. 3000,— fr., geb. 3600,— fr.

Der Name *Charlot* ist bereits so sehr zu einem Begriff geworden, daß sich eine eingehendere Besprechung, des Buches erübrigt. Beim Durchlesen gewinnt man den Eindruck, daß in dem Buch viel mehr geboten wird, als der Titel sagt, und daß auf dieses Buch weit besser der vor rund sechzig Jahren von *Wilhelm Ostwald* zum ersten Male gewählte Titel „Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie" passen würde. Der Autor selbst ist der Ansicht, daß diese 4. Auflage ebensogut den Titel tragen könnte „Die chemischen Reaktionen in Lösung. Anwendung auf die qualitative Analyse."

Da für die qualitative Analyse hauptsächlich Ionenreaktionen in wäßriger Lösung zu beobachten sind, ist auf das Verständnis der Eigenschaften der Ionen in wäßriger Lösung großes Gewicht zu legen. Im ersten Teil werden daher die theoretischen Grundlagen der zu beobachtenden Gleichgewichtsreaktionen, Redoxpotentiale, Löslichkeitsprodukt bzw. (für Komplexe) Stabilitätskonstanten, eingehend erörtert, wobei besonderes Gewicht auf die Abhängigkeit dieser Größen vom p_H-Wert gelegt wird; sehr eingehend wird auch der Säure-Base-Begriff in der *Brönstedt*schen Fassung besprochen. Anschließend an diese Darlegungen werden praktische Übungsbeispiele gebracht und an passenden Stellen immer wieder auf die Anwendung in der qualitativen Analyse hingewiesen.

Im praktischen Teil (Chemische Eigenschaften und Charakterisierung der Ionen) werden dankenswerterweise nicht nur die Reaktionen der in jedem anderen Analysengang berücksichtigten Ionen, sondern ebenso ausführlich die sogenannten „seltenen" Elemente besprochen, wobei z. T. auch die Transurane Erwähnung finden.

Der fortgeschrittene Student wird zweifellos sehr wertvolle Anregungen für seine praktischen Arbeiten schöpfen können, sofern er sich in einem Einführungspraktikum die unerläßlichen analytischen Grundlagen erarbeitet hat. Auch der praktisch tätige Analytiker wird das Buch vielfach mit Nutzen zu Rate ziehen.

Ref. ist überzeugt, daß ein Weiterschreiten auf dem von *Charlot* erschlossenen Weg nicht nur für die Forschung, sondern auch für die Praxis große Vorteile mit sich brächte. *W. Prodinger*, Wien.

Die Chemie der Pflanzenzellwand. Ein Beitrag zur Morphologie, Physik, Chemie und Technologie der Zellulose und ihrer Begleiter. Herausgegeben von *E. Treiber*. Mit 249 Abb. in 336 Einzeldarstellungen. XV, 511 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag. 1957. DM 98,—.

Das Holz und die ihm zugrundeliegenden Bauelemente sind hinsichtlich ihrer Struktur und ihres Chemismus so komplexer Natur, daß ihr Verstehen und die richtige Lenkung ihrer technologischen Verwertung nur durch die gleichzeitige Berücksichtigung ihrer biologischen, mikroskopischen und submikroskopischen sowie physikalischen und chemischen Eigentümlichkeiten möglich ist. Eine solche umfassende Synthese ist das Ziel des vorliegenden Buches, das sich dadurch auch ganz wesentlich von anderen bisherigen Werken über Zellulosechemie unterscheidet. Bei dem großen Umfang des Gebietes und dem weit gesteckten Rahmen war dieses Ziel nur durch die Mitarbeit einer Reihe hervorragender Vertreter spezieller Fachgebiete zu verwirklichen. Der erste Teil des Werkes ist als Einführung gedacht und betont besonders die botanische Seite. Die Einleitung dazu (*E. Treiber* und *L. Stockman*) bringt das Wesen und die Bauprinzipien der Fasern sowie die biologische Entstehung der Zellulose, den Einfluß morphologischer Faktoren auf die Herstellung von Zellstoff und Papier, die kurze allgemeine Darstellung der Kohlenhydrate *(E. Treiber)* und ausführlich die mikroskopische Morphologie des Holzes mit einem kurzen Abriß über den Bau der wichtigsten Faserpflanzen *(O. Härtel)*. Der zweite, wesentlich umfangreichere Teil ist der Chemie, der physikalischen Chemie sowie der submikroskopischen Morphologie der Pflanzenzellwand gewidmet und betrifft im einzelnen: die primären Pflanzenstoffe (*S. Asunmaa, P. W. Lange, B. Lindberg, H. Meier* und *E. Treiber*), und zwar die Zellulose, ihren übermolekularen Aufbau und die Textur der Zellwände, die Hemizellulosen, die Polysaccharide der Algen, Pektine, Pflanzengummi und Schleime, besondere Zellwandstoffe und Chitin und ferner die Verteilung der Zellwandkomponenten in der Zellwand. Eine ausführliche Darstellung (*B. Lindberg, G. Porod, J. Schurz* und *E. Treiber*) erfährt sodann die Reaktionsweise der Zellulose, die Reaktivität der festen Zellulose vom Standpunkt der Phasenregel, die mathematische Formulierung der Reaktivität, die Beurteilung von Kunstseidenzellstoffen, die oxydativen und hydrolytischen Veränderungen der Zellulose, ihre wichtigsten chemischen Umsetzungen, die physikalischen Eigenschaften der Zellulosederivate, Einwirkung von Licht-, Schall- und Wärmeenergie auf Zellulose, Zellulose und Zellulosederivate in Lösung und schließlich Viskositätsmessungen, Molekulargewicht und physikalisch-chemische Konstanten der Zellulose. Auch die Chemie der übrigen Wandsubstanzen findet in einem eigenen Abschnitt (*E. Adler, J. Gierer, O. Härtel, B. Koljo, B. Lindberg, P. Sitte* und *E. Treiber*) ausführliche Berücksichtigung und umfaßt: die Extraktstoffe des Holzes, Zellsaft, Transpirationswasser, Siebröhren- und Cambialsaft, Rinde und Rindenstoffe, Suberin, Wachse und Cutin, das Lignin und schließlich die anorganischen Ausscheidungsstoffe der Pflanzen und die Mineralisierung der Zellwand.

Ein so neuartiges und inhaltsreiches Werk im Rahmen einer gedrängten Besprechung erschöpfend würdigen zu wollen, ist praktisch unmöglich, vielmehr muß sich eine solche vor allem mit kurzen Hinweisen auf dessen Inhalt begnügen. Aber schon aus diesen ist zu ersehen, daß der dem Buche zugrunde liegende Gedanke, das Problem der pflanzlichen Zellwand von allen Seiten her zu beleuchten, in ausgezeichneter Weise verwirklicht wurde. Es erübrigt sich, darauf hinzuweisen, daß der Inhalt dem neuesten Stande

unserer Erkenntnisse entspricht, daß die neueste Literatur ausgiebig berücksichtigt ist und daß die verschiedensten Details durch eine sehr reichliche Bebilderung und eine glückliche Auswahl der Bilder auch dem nicht speziellen Fachmann auf den einzelnen Teilgebieten in sehr anschaulicher Weise vor Augen geführt werden. Bei dem ungeheuren Umfang der speziellen Literatur ist es dem Chemiker heute nicht mehr möglich, sich daraus rasch über die biologische Seite oder die mikroskopische und submikroskopische Struktur des Holzes zu orientieren und umgekehrt auch nicht dem Biologen, jederzeit leicht eine Verbindung zwischen Außeneinflüssen, Struktur und Chemismus herzustellen. Die pflanzliche Membran stellt aber eine Ganzheit dar, die daher auch nur als solche verstanden werden kann. Deshalb hat der Herausgeber mit diesem Buche eine verdienstvolle Tat gesetzt, für die ihm alle, die irgendwie mit der pflanzlichen Membran zu tun haben, Dank wissen werden, nicht zuletzt auch die mit der chemischen Verwertung des Holzes und anderer Pflanzenprodukte befaßte Industrie, für deren Entwicklungsarbeiten eine solche umfassende Grundlage ebenfalls unentbehrlich ist. *J. Kisser*-Wien

K. Cruse und *R. Huber:* **Hochfrequenztitration.** Die chemische Analyse mit Hochfrequenz ohne galvanischen Kontakt zwischen Lösung und Elektrode. (Monographien zu „Angewandte Chemie" und „Chemie-Ingenieur-Technik", Nr. 69.) Mit 152 Abb., XII, 198 S. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie. 1957. DM 22,—.

Das Buch stammt aus der Feder der bekanntesten deutschen Fachleute auf diesem Gebiet und hat eine bisher als schmerzlich empfundene Lücke auf dem Gebiet der elektrochemischen Analysenmethoden, besonders in der deutschen Literatur, geschlossen; auch in den übrigen westlichen Ländern existiert über dieses relativ junge Gebiet der elektrochemischen Analyse kein so umfangreiches Werk. Der Aufbau und die Art der Stoffbehandlung ermöglichen auch dem elektrisch weniger gebildeten Chemiker, sich über die theoretischen Voraussetzungen für die erfolgreiche Durchführung einer Hochfrequenztitration zu informieren und damit in dieses noch entwicklungsfähige Arbeitsgebiet einzudringen. Das Buch gliedert sich in drei große Abschnitte, in denen die theoretisch-elektrischen Grundlagen der Titration, die Übertragung dieser Grundlagen auf die chemische Analyse besprochen werden und abschließend die Meß- und Gerätetechnik einer eingehenden Behandlung unterworfen wird. Im theoretischen Teil werden nach Klarstellung der Grundbegriffe und der Besprechung der bisher üblichen Leitfähigkeitszellen in Form der Vektoranalyse von Wechselstromgrößen die einzelnen Zellenarten ohne Elektrodenkontakt, ihre Ersatzschaltbilder und ihr Anwendungsbereich sowie die erreichbare Empfindlichkeit ihrer Schaltung näher besprochen. Neben der reinen Hochfrequenztitration wird in diesem Kapitel die R. C.-Titration, die auf einer Messung einer der Leitfähigkeit proportionalen Frequenzänderung beruht, erörtert. Außerdem werden die grundlegenden Schaltungen von Röhren-Oszillatoren sowie die Meßanordnung der Hochfrequenztitration übersichtlich dargestellt. Im zweiten Abschnitt, der die Bedeutung der theoretischen Grundlagen für die praktische Analyse näher behandelt, wird der Einfluß der Salzkonzentration, die Art der Ionen und der Lösungsmittel in Abhängigkeit von verschiedenen Faktoren, wie Arbeitsfrequenz, gesamte Elektrolytkonzentration usw. näher besprochen. Der Einfluß der Änderung der einzelnen Variablen auf die Form der Titrationskurven wird an Beispielen erklärt. Auch sind umfangreiche Tabellen über Literaturstellen

der einzelnen Titrationsrichtungen, wie Acidimetrie, Komplex-, Redox- und Fällungstitration, in verschiedenen Unterteilungen zu finden. Die in jüngster Zeit versuchte automatische Hochfrequenztitration findet ebenfalls Berücksichtigung. Ein Kapitel befaßt sich mit der Gegenüberstellung von Meßergebnissen, die unter Anwendung der Hochfrequenztitration gewonnen wurden, und Titrationsresultaten, die unter Anwendung verschiedener anderer physikalisch-chemischer Indikationsmöglichkeiten ermittelt wurden.

In dem Abschnitt über Meß- und Gerätetechnik sind einige Teilabschnitte den verschiedenen bisher verwendeten Zellformen und den verschiedenen Gerätetypen gewidmet. Neben Prinzipschaltbildern werden auch einzelne spezielle Schaltungen sehr detailliert beschrieben. Die Geräte sind in übersichtlicher Form nach ihren Arbeitsbesonderheiten unterteilt. Eine über 170 Zitate umfassende Literatursammlung vervollständigt neben einem Anhang mit Erklärungen von Schaltsymbolen den Inhalt.

Das Buch kann als gelungen bezeichnet werden, so daß es den von den Verfassern in der Einleitung genannten Zweck, zur Verbreitung und Vergrößerung der Anwendung der Hochfrequenztitration beizutragen, voll erfüllen wird. *R. Patzak*-Wien

Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe. Herausgegeben von *L. Zechmeister*, Pasadena. Band XIV. Mit 38 Abb., VIII, 377 S. Wien: Springer-Verlag. 1957. S 426,—, DM 71,—, sfr. 72,70, $ 16,90; Ganzl. S 450,—, DM 75,—, sfr. 76,80, $ 17,85.

In der für diese Schriftenreihe traditionellen Weise sind sieben Beiträge, durchwegs von maßgebend auf dem jeweils behandelten Gebiet tätigen Forschern verfaßt, zu einem Überblick über neuere Ergebnisse der Naturstoffchemie vereinigt. *Bohlmann* und *Mannhardt* bringen „Acetylenverbindungen im Pflanzenreich" (70 S.), deren Strukturen erst im letzten Jahrzehnt bekannt geworden sind. Das 2. Kapitel „Neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der glykosidischen Herzgifte" (*Tamm*, 70 S.) setzt mit „Zucker und Glykoside" den im vorangehenden Bande enthaltenen Artikel („Grundlagen und Aglykone") fort. Anschließend behandelt *Brockmann* „Photodynamisch wirksame Pflanzenfarbstoffe", eine kleine, interessante Stoffgruppe (45 S.), dann *Birch* einen Ausschnitt aus seinem großen gedanklichen Werke „Biosynthetic Relations of Some Natural and Phenolic Compounds" (30 S.), das auch experimentell schon untermauert wird. *Sobotka*, *Barsel* und *Chanley* besprechen auf 28 Seiten die durch ihre Wirkungen auf den Organismus bemerkenswerten Aminochrome, *Morton* und *Pitt* auf 72 Seiten die „Visual Pigments". Der Band schließt mit „The Carbon Cycle in Nature" (*Brown*, *Caltech*, 16 S.), wobei nicht etwa die bekannten Arbeiten über den Gang der Photosynthese gebracht werden, sondern Bilanzen auf große Sicht.

Man kann die behandelten Stoffgebiete als angewandte organische Mikrochemie subsumieren, die ihre Arbeitsmethodik ständig verfeinern muß, um immer wirksamere, in immer kleineren Mengen vorkommende und verfügbare Stoffe der Forschung zugänglich zu machen. Wegen ihrer nahen Verquickung mit dem organischen Leben ist diesen Forschungen das lebhafteste Interesse der ganzen Naturforschung sicher. Die ausgezeichnet abgefaßten Abhandlungen wurden in gediegener Weise zu einem Bande vereinigt, dessen Lektüre und Studium reiche Befriedigung und wertvolle Anregung vermitteln.

F. Kuffner-Wien

H. F. Linskens: **Papierchromatographie in der Botanik.** Mit 63 Textabb., XII, 253 S. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer-Verlag. 1955. Ganzleinen DM 38,—.

Trotz des relativ bescheidenen Umfanges hat das vorliegende Buch den Charakter eines Nachschlagewerkes. Es gewährt eine rasche Orientierung über bewährte Methoden der Aufarbeitung von Pflanzenmaterial zur Analyse, der Trennung von Pflanzenstoffen mit Hilfe der Papierchromatographie und Papierelektrophorese und schließlich deren qualitativer und quantitativer Auswertung. Da überdies die angegebenen Methoden in vielen Fällen ohne Heranziehung der Originalliteratur — rund 700 Literaturstellen werden angeführt — nachgearbeitet werden können, dürfte das handliche Buch bald in jedem biochemischen Laboratorium seinen Platz finden.

Im allgemeinen Teil wird eine knappe Einführung in die Methodik gegeben, die in den speziellen Kapiteln durch Hinweise aus der Laboratoriumspraxis bereichert wird. Ein Abschnitt über Isotopentechnik regt zu weiterem Studium an und hilft vielleicht dem Ungeübten, grobe Fehler zu vermeiden. Im speziellen Teil findet man neben erwarteten Kapiteln über anorganische Ionen, Kohlehydrate, Aminosäuren und Peptide, organische Säuren, Phenole und Alkaloide auch Abschnitte über Pigmente, Enzyme, Wirkstoffe (Wachstumsregulatoren, Vitamine) und Hemmstoffe (Antibiotica, Welktoxine). Die angegebenen Methoden wurden von den 13 Sachbearbeitern meist recht sorgfältig ausgewählt. Im Kapitel über strukturgebundene Farbstoffe scheint die Zusammenstellung dem Referenten nicht kritisch genug zu sein, um dem Nichteingearbeiteten ein erfolgreiches Vorgehen zu ermöglichen. Vollständigere Erfassung und Bearbeitung der Literatur wäre hier notwendig. Das Kapitel „Organische Säuren" würde durch Ausgestaltung des zu dürftig gehaltenen Abschnittes über Aufarbeitung gewinnen. Auf S. 91, Tabelle 18, sind in Spalte 1 einige *Rf*-Werte wie folgt zu berichtigen: Aconitsäure 0,36; Oxalsäure 0,18; Glutarsäure 0,78; Adipinsäure 0,86.

Druck und Ausstattung lassen nichts zu wünschen übrig. Sehr übersichtliche Anordnung des Textes, reichhaltige Tabellen und ein ausführliches Sachregister sind weitere Positiva dieser empfehlenswerten Neuerscheinung.

J. E. Loeffler-Princeton, N. Y.

K. Michel: **Die Mikrophotographie.** (Die wissenschaftliche und angewandte Photographie. Erneuerung und Fortführung des Hay-v. Rohrschen Handbuches der wissenschaftlichen und angewandten Photographie. Hrg. von *K. Michel*, 10. Band). Mit 550 teils farb. Textabb., XXXII, 740 S. Wien: Springer-Verlag. 1957. Ganzl. S 840,—, DM 140,—, sfr. 143.40, $33,30, £ 11/18/—.

Mit diesem Buch ist eine im Schrifttum seit langem bestehende Lücke endlich geschlossen worden. Es kann vorweggenommen werden, daß dieses Werk so reichhaltig und ausgezeichnet ist, daß kaum ein wesentlicher Wunsch offenbleibt.

Der Inhalt ist in 3 Hauptteile gegliedert:

1. Grundlagen (140 Seiten), 2. Geräte zur Mikrophotographie (354 Seiten) und 3. Praxis der Mikrophotographie (206 Seiten). Jeder Teil bringt in übersichtlicher Form eine erschöpfende Darstellung alles dessen, was nur irgendwie zum Gegenstand gehört. Um die Vollständigkeit und Gründlichkeit des Gebotenen zu zeigen, seien *beispielsweise* einige Unterabschnitte angeführt. Im ersten Teil werden die wesentlichen Dinge der geometrischen Optik,

Abbildungsfehler, Lichtverluste durch Streuung oder Beugung, durch Absorption und durch Reflexion abgehandelt. Aus dem zweiten Teil: Die verschiedenen Mikroskopobjektive und -okulare, ihre Prüfung und Pflege; die Beleuchtungseinrichtungen mit allen ihren Teilen, wie Lichtquellen, Lichtfilter, Kondensoren usw.; die mikrophotographische Kamera (mit einem historischen Rückblick); Sondergeräte. Aus dem dritten Teil: Wahl der Optik und Beleuchtungsart, Bestimmung der Belichtungszeit einschließlich automatischer Steuerung der Belichtung; besondere mikroskopische Untersuchungsmethoden, wie etwa: mit polarisiertem, ultraviolettem oder infrarotem Licht, Mikroaufnahmen in natürlichen Farben, Spektralaufnahmen mittels mikrophotographischer Einrichtung, Fluoreszenzmikrophotographie, Aufnahme bewegter Objekte, Mikrokinematographie, Hochfrequenz- und Stereomikrophotographie; eine Zusammenstellung über einige häufig auftretende Fehler bei Mikroaufnahmen. Den Abschluß bilden ein nach Autoren alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis mit 678 Titeln auf 27 Seiten und ein umfangreiches Sachregister (18 Spalten), das die Benützung des Buches als richtiges Nachschlagewerk ermöglicht.

Das Werk geht — was im Titel gar nicht zum Ausdruck kommt — weit über die Mikrophotographie hinaus und enthält eine systematische Zusammenfassung praktisch des Gesamtgebietes der Mikroskopie, wobei sehr viele konstruktive Details in aller Ausführlichkeit (Bilder, Skizzen, Schnittzeichnungen) gebracht werden. Auch Dinge am Rande, wie etwa Interferenzfilter, Elektronenblitz, Farbfilm u. a., werden so ausführlich behandelt, daß man erste Informationen darüber sehr gut aus dem Buch gewinnen kann. Die Darstellung ist klar und verständlich und verrät die souveräne Beherrschung der Materie durch den Autor. Die zahlreichen Abbildungen sind mustergültig und auch der Druck und die übrige Ausstattung des Buches sind ausgezeichnet.

Von den wenigen, durchaus nicht sinnstörenden Fehlern, die das Buch enthält, sei auf einige aus den Kapiteln VII, VIII und IX — weil diese schon in einem anderen Buch des gleichen Verfassers enthalten und daraus unverändert entnommen sind — hingewiesen. S. 124: Als Träger für Bromsilber-Gelatine wäre außer Glasplatten und Zelluloid- oder Acetylzellulosebändern noch Papier zu nennen. S. 128, 7. Zeile, sollte es heißen, daß im geradlinigen Stück (II—III) die Schwärzung proportional zum Logarithmus der Belichtung wächst (nicht proportional zur Belichtung). S. 140, oben: Die Verarbeitung (Entwicklung) beim Kodachromverfahren weicht — nach den Angaben der einschlägigen Literatur — auch heute noch von jener beim Agfacolorverfahren ab.

Bei der Bedeutung, welche die Mikroskopie und Mikrophotographie in den Naturwissenschaften, in der Medizin und in der Technik, aber auch auf anderen Gebieten besitzt, ist dem Buch eine große Verbreitung gewiß. Man darf es als Standardwerk auf seinem Gebiet bezeichnen. Es wird von allen, die sich mit Mikroskopie beschäftigen, in gleicher Weise vom praktisch Tätigen, vom Studierenden, vom Lehrer und vom Forscher mit größtem Nutzen verwendet werden. *A. Maschka*-Wien

Herausgeber, Eigentümer und Verleger: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52